



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA
DIVISIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD**

**ESTUDIO DE ASOCIACIÓN ENTRE VARIANTES GENÉTICAS DEL
METABOLISMO LIPÍDICO Y LA DISLIPIDEMIA EN UNA COHORTE
DE PACIENTES PEDIÁTRICOS CON INFECCIÓN POR VIH Y QUE
RECIBEN TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL.**

T E S I S

Que para obtener el Diploma de Pediatría

PRESENTA:

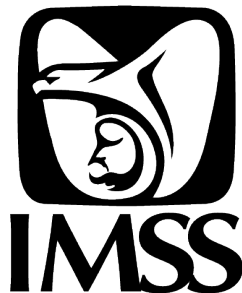
DR. JORGE ALBERTO HERNÁNDEZ ÁLVAREZ

ASESORES:

**DR. GUILLERMO VÁZQUEZ ROSALES
ADSCRITO SERVICIO DE INFECTOLOGÍA, "SILVESTRE FRENK
FREUND", CMN S.XXI.**

**DRA. ERICKA NELLY POMPA MERA
Investigadora Asociada "C" de Tiempo Completo, Comisionada en la
Unidad de Investigación en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias,
"SILVESTRE FRENK FREUND", CMN S.XXI.**

**DRA. GUADALUPE GORDILLO PÉREZ
INVESTIGADORA ASOCIADA B DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN
EN ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y PARASITARIAS, "SILVESTRE
FRENK FREUND", CMN S.XXI**



CIUDAD DE MÉXICO

2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AUTORIZACIÓN
COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
R-2019-3603-075

En virtud de haber terminado de manera satisfactoria su tesis y contar con el aval de su director de tesis para obtener el grado de especialista en:

PEDIATRÍA MÉDICA

SE AUTORIZA LA IMPRESIÓN DE TESIS DEL ALUMNO

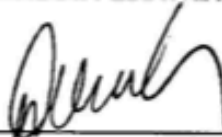
Jorge Alberto Hernández Álvarez

"Estudio de Asociación entre variantes genéticas del metabolismo lipídico y de la dislipidemia en una cohorte de pacientes pediátricos con infección por VIH y que reciben tratamiento antirretroviral"



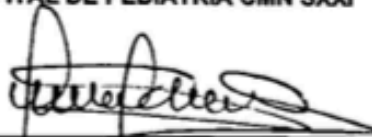
DR. LEONCIO PEREGRINO BEJARANO
PRESIDENTE

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN PEDIATRÍA
UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA CMN SXXI



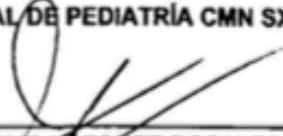
DR. MIGUEL ÁNGEL VILLASÍS-KEEVER
SECRETARIO

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN ANÁLISIS Y SÍNTESIS DE LA EVIDENCIA
UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA CMN SXXI



DRA. AMANDA OLIVARES SOSA
VOCAL

ENC. DE LA DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD
UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA CMN SXXI



DR. GUILLERMO VÁZQUEZ ROSALES
ASESOR DE TESIS
ADSCRITO SERVICIO DE INFECTOLOGÍA
UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA CMN SXXI

AGRADECIMIENTOS

*Agradezco a Dios y a la vida por darme una oportunidad
para desarrollarme*

*A mis padres, por ser ese faro que ilumina la noche,
apoyarme en cada momento de mi vida e inculcarme que
con trabajo arduo se alcanzan los sueños.*

*A mis hermanos que siempre están conmigo
acompañándome, apoyándome y demostrándome cuan
valiosa es la vida y no hay obstáculo imposible.*

*A Rebeca por su paciencia, comprensión y ayuda, pero
principalmente por mostrarme que el amor y el buen
humor es siempre un motor para vivir y salir adelante.*

*A los profesores que me dedicaron un momento para
enseñarme que un buen pediatra no es aquel que solo
cura enfermedades, un excelente pediatra es aquel que te
apoya en los peores momentos del proceso.*

*Las palabras nunca serán suficientes para demostrar el
nivel de gratitud que siento por ustedes.*

Muchas gracias.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



2TRY
0968c2e41f

Dictamen de Aprobado

Comité Local de Investigación en Salud 3603.
HOSPITAL DE PEDIATRIA, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

Registro COFEPRIS 17 CI 09 015 042
Registro CONBIOÉTICA CONBIOETICA 09 CEI 032 2017121

FECHA Lunes, 21 de octubre de 2019

M.C. José Guillermo Vázquez Rosales

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título **ESTUDIO DE ASOCIACIÓN ENTRE VARIANTES GENÉTICAS DEL METABOLISMO LIPÍDICO Y LA DISLIPIDEMIA EN UNA COHORTE DE PACIENTES PEDIÁTRICOS CON INFECCIÓN POR VIH Y QUE RECIBEN TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL** que sometió a consideración para evaluación de este Comité, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **APROBADO**.

Número de Registro Institucional
R-2019-3603-075

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE

Dr. HERMILO DE LA CRUZ Y NEIZ
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 3603

Impresión

IMSS
SECRETARÍA DE SALUD

LUGAR DE DESARROLLO

La presente tesis se desarrolló en el Servicio de Infectología del Hospital de Pediatría “Silvestre Frenk Freund”, UMAE Hospital de Pediatría “Dr. Silvestre Frenk Freund” del Centro Médico Nacional S.XXI., bajo la asesoría del Dr. Guillermo Vázquez Rosales; en colaboración con la Dra. Ericka Nelly Pompa Mera y la Dra. Guadalupe Gordillo Pérez de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias (UIMEIP), UMAE Hospital de Pediatría “Dr. Silvestre Frenk Freund” del Centro Médico Nacional S.XXI.

El proyecto cuenta con número de Registro institucional: R-2019-3603-075.

Para el desarrollo de la presente tesis, se contó con el apoyo financiero CONACyT-FONSEC-221632.

INDICE

1. Abreviaturas.....	7
2. Resumen.....	8
3. Introducción.....	10
4. Planteamiento del Problema.....	19
5. Preguntas de Investigación.....	20
6. Justificación.....	21
7. Objetivos.....	22
8. Hipótesis.....	22
9. Material y Métodos.....	23
10. Plan General de Trabajo.....	27
11. Consideraciones Éticas.....	31
12. Aspectos de Bioseguridad.....	33
13. Recursos, financiamiento y factibilidad.....	34
14. Resultados.....	35
15. Discusión.....	48
16. Conclusiones.....	52
17. Referencias.....	53

ABREVIATURAS

ABC	Abacavir
ABCA1	Proteína de membrana transporte acoplado a ATP
ADA	American Diabetes Association
APO	Apolipoproteína
APOA5	Apolipoproteína A5
APOC3	Apolipoproteína C3
ARV	Antirretrovirales
ATV/r	Atazanavir reforzado con ritonavir
AZT	Zidovudina
BSL-2	Nivel de Bioseguridad tipo 2
CETP	Proteína de transferencia de esterios de colesterol
CT	Colesterol Total
DNA	Ácido desoxirribunucleico
DNAg	Ácido desoxirribunucleico genómico
dL	Decilitro
DRV/r	Darunavir reforzado con ritonavir
DTG	Dolutegravir
ECV	Enfermedad cardiovascular
EFV	Efavirenz
EDTA	Ac. Etiléndiaminotetraacético
ETV	Etravirina
FSV/r	Fosamprenavir reforzado con ritonavir
HDL-c	Colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad
HTG	Hipertrigliceridemia
IE	Inhibidores de entrada
IMC	Índice de Masa Corporal
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
IP	Inhibidores de Proteasa
INsTI	Inhibidores de la integrasa
LDL-c	Colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad
LPV/r	Lopinavir reforzado con ritonavir
mg	Miligramo
MVC	Maraviroc
ng	Nanogramos
NRTI	Inhibidores de transcriptasa reversa análogos de nucleósidos
NNRTIs	Inhibidores de transcriptasa reversa no nucleósidos
NOM	Norma Oficial Mexicana
pb	Pares de bases en el DNA
PBMC	Células Mononucleares de Sangre Periférica
pmol	Picomoles
qPCR	Reacción en cadena de polimerasa en tiempo real
RPBI	Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos
RAL	Raltegravir
Sida	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
SQV/r	Saquinavir reforzado con ritonavir
TARV	Tratamiento ó Terapia antirretroviral
TG	Triglicéridos
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana
VLDL-c	Colesterol unido a las lipoproteínas de muy baja densidad
3TC	Lamivudina

Resumen

Estudio de asociación entre variantes genéticas de del metabolismo lipídico y la dislipidemia en una cohorte de pacientes pediátricos con infección por VIH y que recibieron tratamiento antirretroviral.

Hernández JA, Gordillo-Pérez G, Vázquez G, Pompa-Mera EN.

Introducción: El tratamiento antirretroviral (TARV) ha modificado de manera significativa, la morbi-mortalidad de la infección por el virus de inmunodeficiencia humana y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (VIH/Sida). Sin embargo, la exposición prolongada a los fármacos antirretrovirales (ARVs), tiene como consecuencia una serie de eventos adversos a nivel metabólico, con una prevalencia (30-72%). No todos los pacientes desarrollan la misma respuesta al TARV en el contexto de complicaciones metabólicas, sugiriendo que la esta variabilidad interindividual se ve influenciada por factores genéticos asociados al huésped o variantes genéticas. [1 2 3]. **Objetivos:** Comparar los niveles lipídicos de pacientes pediátricos del Hospital de Pediatría “Silvestre Frenk Freund”, que viven con VIH y que reciben tratamiento antirretroviral, con base en el perfil genotípico de los SNP rs662799 [T/C] y rs964184 [C/G] del gen *APOA5*; rs2854117 [C/T] y rs5128 [C/G] del gen *APOC3*. **Material y métodos:** Se diseñó un estudio transversal descriptivo, donde se incluyeron niños infectados con VIH entre 3 y 18 años con TARV, con registros trimestrales de perfil lipídico, durante al menos un periodo de 5 años. La genotipificación de SNPs se realizó por medio de reacción en cadena de polimerasa en tiempo real (qPCR) y validadas por secuenciación nucleotídica Sanger. **Resultados:** Se reclutaron 21 pacientes, 15 hombres (71.4%) y 6 mujeres (28.6%) con una edad de 3 a 18 años, con mediana de IMC < 17.5 kg/cm²). El esquema de TARV más utilizado fue 3TC/AZT/LPV/r (61.9%). Las variantes genéticas rs964184-GG y rs662799-TC del gen *APOA5* y rs5128-CG del gen *APOC3* tuvieron un impacto en el aumento de triglicéridos. Por otra parte, los pacientes portadores de la variante TC riesgo moderado rs662799 gen *APOA5* mostraron, un aumento de colesterol-LDL de manera notoria a partir de los 30 meses de TARV, mientras que los pacientes portadores de la variante genética

rs5128-CG de riesgo moderado del gen *APOC3* mostraron aumento de colesterol-VLDL. **Conclusiones:** Las variantes genéticas rs964184-GG y rs662799-TC del gen *APOA5* y rs5128-CG del gen *APOC3* tienen un impacto notorio, en el desarrollo de dislipidemias a expensas del aumento de triglicéridos, colesterol-LDL y colesterol-VLDL que llevan más de 30 meses de TARV.

INTRODUCCIÓN

La infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) se considera en la actualidad un problema de salud pública, dada su magnitud, trascendencia y potencial pandémico [1]. Este virus es el agente causal del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (Sida), una enfermedad caracteriza por la destrucción/pérdida progresiva de las células T CD4+, una inmunosupresión avanzada, lo que genera una susceptibilidad aumentada a infecciones oportunistas, desarrollo de neoplasias y deterioro neurocognitivo [2,3]. La infección por VIH *per se* afecta a cada individuo en formas complejas, en todos los rangos de edades desde la etapa neonatal, hasta la edad avanzada [3] y puede contribuir al desarrollo de otras comorbilidades de tipo cardiovascular, óseo, renal y a nivel hepático [2].

De acuerdo con las estimaciones de Onusida en 2017, a nivel global y hacia finales de 2017, 36.9 millones [31.1 millones–43.9 millones] de personas vivían con la infección por VIH; de los cuales 1.8 millones [1,3 millones–2,4 millones] corresponde a infecciones por VIH registradas en niños menores de 15 años [4]. En nuestro país, hasta 2017 se estima que a nivel nacional, aproximadamente 3981 niños menores de 15 años viven con la infección por VIH, siendo 47 de ellos los notificados como casos nuevos en 2017 [5].

A pesar del gran éxito en la prevención de la transmisión del VIH de madre a hijo, las nuevas infecciones por VIH continúan ocurriendo en los bebés como resultado de varios factores, entre los que destacan: la alta prevalencia e incidencia del VIH en mujeres en edad fértil (en ciertas regiones del mundo), la incompleta implementación de intervenciones para la prevención de la transmisión vertical del VIH madre-hijo, en términos del diagnóstico tardío de la infección por VIH durante el embarazo; así como los problemas relacionados a la subóptima adherencia al tratamiento antirretroviral (TARV) [6].

De manera importante, hacia fines de 2014 había 2.6 millones de niños menores de 15 años, infectados por VIH, la mayoría de ellos de la región de África Subsahariana. De hecho, en ese año, se registraron 220,000 nuevas infecciones en población

pediátrica, y 150,000 muertes relacionadas a Sida, lo que representa más del 10% del total de las nuevas infecciones a nivel mundial, registradas en ese año [7].

Tratamiento antirretroviral (TARV)

Desde su introducción, el tratamiento antirretroviral (TARV), constituye uno de los principales factores que han modificado de manera significativa, la morbi-mortalidad de la infección por VIH/Sida, mejorando la expectativa de vida de los pacientes, convirtiendo la infección a una enfermedad crónica manejable [8, 9,10]. A este respecto, el TARV consiste en el uso combinado de fármacos antirretrovirales (ARVs) de alta potencia, dirigidos a distintos blancos del ciclo replicativo del VIH [11]; que permiten la supresión máxima y sostenida de la carga viral (en la mayoría de los pacientes con adherencia al tratamiento); con la parcial reconstitución inmune, lo que permite eliminar el riesgo de enfermedades oportunistas [12]. Existen 6 familias de fármacos ARVs: los inhibidores de la transcriptasa reversa análogos de nucleós(t)ido (NRTI), los inhibidores de la transcriptasa reversa no análogos de nucleósido (NNRTI), los inhibidores de proteasa (IP); los inhibidores de la fusión (IF), los inhibidores de la integrasa (INsTI) y los inhibidores de entrada o agonistas del correceptor CCR5 [13,14]. En la actualidad, se encuentran disponibles alrededor de 30 fármacos ARVs de las 6 familias distintas. La combinación de al menos 3 fármacos ARVs de al menos 2 clases distintas, constituye el estándar para lograr el objetivo de la supresión virológica [14, 15, 16].

Además de los beneficios del TARV arriba mencionados, en el caso de la población pediátrica, el TARV mejora el crecimiento y la función neurocognitiva y por lo tanto, la calidad de vida [14]. En 2015, se revisaron las pautas para recomendar el inicio del TARV en población pediátrica, destacando la importancia del inicio temprano del TARV sin importar la edad, los criterios clínicos o inmunológicos [17]. A este respecto, está demostrado que comenzar el TARV en las primeras semanas de vida, tiene un impacto significativo en la disminución de la mortalidad [18] y en gran medida en la disminución de células con virus latentes [19].

A nivel global, se estima que el 52% [37–70%] de los niños de hasta 14 años y que viven con infección por VIH, tiene acceso al TARV [4]. En nuestro país, más del 74% de la población pediátrica con infección por VIH, recibe TARV [4, 5].

Si bien el TARV, ha cambiado radicalmente el pronóstico de la infección por el VIH, al incidir en la reducción de la mortalidad asociada a VIH/Sida, también está documentado que la exposición prolongada a los fármacos ARVs, tiene como consecuencia una toxicidad acumulativa.

Una serie de efectos adversos a nivel metabólico; entre los que destacan la lipodistrofia, resistencia a la insulina, adiposidad central, y de manera muy importante la dislipidemia [20, 21], siendo esta última, en conjunto con la inflamación, de los factores que pueden contribuir, de manera importante a la aterosclerosis y al incremento del riesgo cardiovascular en población pediátrica y adulta [22, 23, 24, 25].

Dislipidemia en población VIH

La dislipidemia también es prevalente entre los pacientes pediátricos que viven con infección por VIH y que reciben TARV [25, 26]. Esta se define como un desorden metabólico multifactorial, caracterizado por la una elevación de los niveles plasmáticos de triglicéridos (TG), colesterol total (CT), colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad [LDL-c) y colesterol unido a lipoproteínas de muy baja densidad [VLDL-c), disminución del colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL-c), ya sea de manera aislada o en conjunta [26, 27]. Todas estas alteraciones, son el resultado del papel crítico del colesterol en el mecanismo de la replicación del VIH-1 [21].

Su fisiopatología es compleja y multifactorial, involucrando factores asociados al virus, al tratamiento, al estilo de vida y los factores genéticos en los pacientes [28]. Es importante destacar que el aumento de TG (o hipertrigliceridemia, HTG) y la disminución de HDL, representan las alteraciones lipídicas más prevalentes entre los pacientes con VIH que reciben TARV [29] y que constituyen el perfil aterogénico

en estos pacientes [25, 26]. Esta dislipidemia asociada a la infección por VIH resulta muy similar a la observada en enfermedad crónica [27].

Dislipidemia secundaria al TARV

La prevalencia de HTG observada en los pacientes con VIH y que reciben TARV es alta [31 - 81%] y puede variar dependiendo de la región, el régimen antirretroviral [30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40]. En nuestro país, existe una elevada incidencia de alteraciones metabólicas entre los pacientes infectados con VIH y que reciben regímenes de TARV con ABC/3TC y/o LPV/r, durante el primer año de tratamiento, aún si estos son paciente jóvenes y con una incidencia de HTG del 37.2% [36].

Por otra parte, está documentado que la dislipidemia a expensas de la disminución en los niveles de HDL-c, seguido de una disminución en los niveles LDL-c, suelen observarse al inicio de la infección por VIH, en donde existe una viremia significativa [27, 35].

La infección por VIH afecta la función de eflujo de colesterol de las HDL, contribuyendo de esta manera, al proceso aterogénico en población VIH [41]. Asimismo, la disminución de HDL-c se correlaciona con la activación inmune de manera temprana, durante la infección aguda [42]. Recientemente se demostró que esta disminución en HDL-c en niños menores de 14 años y en adolescentes con infección por VIH y sin tratamiento, constituye *per se*, un factor de riesgo para el desarrollo de dislipidemia [25].

Diversos estudios han documentado los efectos de los fármacos ARVs en el desarrollo de dislipidemia secundaria al TARV. A este respecto, el uso de los IP se asocia con la HTG, la cual es altamente prevalente en población con infección por VIH y que recibe TARV, seguido por los NNRTI y los NRTI [21, 22].

En un estudio de metaanálisis, se estimó que los niños con infección por VIH y que reciben TARV, tienen alrededor de 2 veces más riesgo de desarrollar HTG (OR 2.2, IC 95% 1.7 - 2.9), en comparación con aquellos que no reciben TARV [38]. La prevalencia de la HTG en población pediátrica con infección por VIH y que recibe TARV, puede variar (30-72%), dependiendo de la región geográfica [30, 43, 44, 45, 46, 47, 48].

En un estudio reciente, se encontró que la dislipidemia y la inflamación crónica son factores que pueden contribuir al riesgo de aterosclerosis prematura en niños y adolescentes infectados con VIH y que reciben TARV [25]. Aunque se desconoce el riesgo de enfermedad cardiovascular, en el largo plazo, para los niños infectados por el VIH con TARV; las elevaciones observadas en los niveles de colesterol total, son similares a las observadas en pacientes heterocigotos para la hipercolesterolemia familiar y, por lo tanto, pueden conferir un riesgo similar de enfermedad aterosclerótica prematura [49, 50].

Si bien la incidencia de cardiomiopatía en población pediátrica se redujo en un 3.7% desde la introducción del TARV combinado [51], la enfermedad cardiovascular en el paciente con VIH sigue siendo un problema de salud. A este respecto, el TARV parece tener un efecto cardioprotector [52].

En pacientes adultos, con supresión virológica, las enfermedades cardiovasculares (CVD) son la tercera causa de muerte (después del cáncer y la enfermedad hepática) [53, 54]. A este respecto, el impacto del TARV en el riesgo de infarto al miocardio parece ser dependiente del tiempo de exposición al TARV y al suministro de IPs dentro del régimen farmacológico que recibe el paciente [21].

La dislipidemia, al igual que otras complicaciones a nivel metabólico, en población pediátrica con infección por VIH y que reciben TARV, resulta particularmente preocupante, dado el riesgo potencialmente mayor de enfermedad cardiovascular en la edad adulta temprana [22].

Aún con características demográficas e historia farmacológica similares, no todos los pacientes infectados con el VIH, desarrollan la misma respuesta a la TARV, en el contexto de complicaciones metabólicas y en particular, la dislipidemia. Esta variabilidad interindividual en la susceptibilidad de desarrollar dislipidemia, sugiere la influencia de factores genéticos asociados al huésped que determinan la toxicidad del tratamiento antirretroviral [55, 56, 57, 58, 59, 60, 61]; entre los cuales las variantes genéticas o polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés) tienen una importante participación, [57, 62]. A través de diversos estudios de asociación genética, se ha documentado que las concentraciones lipídicas en sangre tienen componente genético y pueden explicar 43-83% de la variabilidad en los niveles plasmáticos de lípidos [27, 63, 28]. A este respecto, los SNPs representan la forma más abundante ($\geq 90\%$) de variación genética en humanos y que se les puede localizar en el genoma, cada 1900 pb, ya sea en su estado heterocigoto (presencia de una variante alélica común y una variante alélica rara, también llamada alelo de frecuencia menor), o en su estado homocigoto (dos variantes alélicas idénticas) [62, 64].

La dislipidemia secundaria al TARV en población VIH, también es una condición clínica compleja y multifactorial, resultante de la interacción tanto de factores ambientales (dieta, ejercicio, hábito de fumar, sedentarismo y estrés), como por factores genéticos o SNPs, presentes en genes involucrados en el metabolismo y regulación de lípidos [27; 61]. Generalmente, la contribución de un SNP sobre algún rasgo o fenotipo, es baja. Sin embargo, el efecto aditivo de grupos de SNPs (haplotipo), puede contribuir aún más a la variación de la toxicidad farmacológica por ARV [28].

En este contexto, la dislipidemia puede ser vista como la expresión fenotípica de una latente predisposición genética [57]. De esta manera, en la infección por VIH, la predisposición genética puede ayudar a explicar la variabilidad entre los pacientes.

Los estudios de asociación genética (en su mayoría transversales), enfocados a describir la predisposición genética a dislipidemia en población VIH, consideran a los SNPs presentes en genes de proteínas moduladoras de los TG, HDL-c y LDL-c. A este respecto, estos SNPs, pueden explicar las variaciones en los niveles de lípidos en pacientes con VIH y que reciben TARV, hasta un 7.6% para LDL-c, un 6.2% para HDL-c y hasta un 6.8% en el nivel de TG [65].

A este respecto, las apolipoproteínas (APOs) son componentes clave en la modulación del metabolismo de proteínas. Diversos estudios han examinado la variabilidad genética en el grupo de genes *APOA1/C3/A4/A5* (locus11q23 de humano). En particular, la *APOA5* es una lipoproteína moduladora de los lípidos en sangre, la cual es principalmente sintetizada en hígado y secretada en plasma, en donde modula la concentración de TG, a través de 3 mecanismos: incrementando la lipólisis de TG, activando la actividad de la lipoproteína lipasa (LPL) y acelerando la incorporación hepática de los remanentes de lipoproteínas [66]. En el gen *APOA5*, se han descrito 3 SNPs asociados a la hipertrigliceridemia: rs662799 [-1131, T/C], rs964184 [C/G] y el rs3135506 (Ser19 N Trp; C56>G) [65; 66, 67]. De manera importante, se ha documentado que las frecuencias del alelo menor del SNP rs964184-G, asociado fuertemente con la HTG, tiene diferente distribución en las frecuencias alélicas entre grupos étnicos caucásicos y amerindios de México [67, 68]. Por su parte, la *APOC3* es el principal componente de las lipoproteínas ricas en TG (quilomicrones y VLDL) y un componente menor de las HDL. La proteína madura de 79 aminoácidos, se sintetiza principalmente en el hígado y en menor proporción en el intestino. Diversos estudios sugieren que *APOC3* tiene un importante papel en el catabolismo, ya que contribuye en la lipólisis de las lipoproteínas ricas en TG. Por otra parte, *APOC3* se encuentra selectivamente elevada en pacientes con HTG [69]. En relación a los SNPs identificados en el gen *APOC3*, diversos estudios, han demostrado que los SNPs rs2854117, -482 [C/T], rs2854116, -455 [T/C], también se asocian con el riesgo de HTG en pacientes con infección por VIH y que reciben IP [70]. De hecho un estudio longitudinal realizado en Argentina, en población pediátrica-VIH y que recibe TARV, confirmó que los SNPs rs2854117, -482 [C/T],

rs2854116, -455 [T/C] y el 3238 [C/G], tienen un poder predictivo en los niveles de colesterol total [46]. De esta manera, estos estudios revelan que estos polimorfismos del gen *APOC3* están influenciados por la raza y la etnicidad de la región europea, norteamericana y sudamericana.

Dado que la disminución de HDL-c constituye también el perfil aterogénico. A este respecto, la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP), sintetizada primariamente por hígado e intestino, promueve el intercambio de TG y colesterol entre lipoproteínas y esta transfiere ésteres de colesterol de las HDL-c, a otras lipoproteínas para la subsecuente absorción por los hepatocitos. Los ésteres de colesterol son transferidos a las LDL-c y VLDL-c a cambio de TG. Como consecuencia, el aumento de los ésteres de colesterol en las LDL y las VLDL-c, CETP incrementa la aterogenicidad de estas lipoproteínas [61].

SNPs en el gen *CETP* (cromosoma 16), han sido asociados en individuos con disminución de los niveles de HDL-c, tales como rs1800775, rs3764261, rs173539, rs9939224, rs711752, rs708272, rs7203984, rs7205804, rs11076175 y rs9929488 [71]. De manera importante, el alelo T del SNP rs3764261 del gen *CETP* ha sido identificado por tener efecto benéfico, sobre la concentración plasmática de HDL-c en pacientes adultos con infección por VIH y que reciben TARV [72]. De manera colectiva, estos estudios indican que el riesgo de desarrollar dislipidemia secundaria en pacientes infectados con el VIH y que reciben TARV, está influenciado de manera importante por variantes genéticas ó conjuntos de SNPs (haplotipo) en loci específicos y que sus efectos dependen del grupo étnico.

Recientemente, nuestro grupo de investigación realizó un estudio en 602 pacientes adultos Mexicanos, con infección por VIH y que recibían TARV. De manera importante, los SNPs o variantes genéticas rs662799-C y rs964184-G (presentes en el gen *APOA5*) y los SNPs rs2854117-T y rs5128-G (presentes en el gen *APOC3*) se asociaron con el desarrollo de HTG [73].

Si bien esta investigación, permitió el reconocimiento de 5 marcadores genéticos que predisponen a desarrollar HTG en pacientes adultos con VIH; tiene como limitante el diseño transversal, el cual no permite evaluar el desarrollo de HTG en el

largo plazo. En este sentido, los niños y adolescentes ofrecen una oportunidad única no solo para estudiar los mecanismos fisiológicos de la cardiomiopatía asociada al VIH, sino también para estudiar la utilidad de estos factores genéticos, sobre el impacto en el metabolismo lipídico, en el largo plazo; ya que es en esta población en donde es nula, la probabilidad de exposición a otros factores de confusión (la hipertensión, el tabaquismo, la obesidad, la diabetes mellitus y la aterosclerosis coronaria). En consiguiente, el impacto de la infección por VIH y el TARV en niños sugiere que las comorbilidades cardíacas pueden tener lugar en la edad adulta [52]. Con base en esta explicación, resulta de gran interés investigar si los marcadores genéticos identificados en pacientes adultos con VIH, pueden ser usados en el monitoreo de la respuesta en términos de TG, en pacientes pediátricos que viven con la infección por VIH.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Además de los desafíos que representan la retención en el cuidado y el inicio del TARV en la población pediátrica [74], es importante tener en cuenta que los niños y adolescentes infectados con el VIH y que reciben TARV, pueden estar en riesgo de aterosclerosis prematura debido al estado inflamatorio crónico y a la dislipidemia [25]. En este contexto, la elevada prevalencia de la HTG (44.2 -79.2%) entre los pacientes pediátricos infectados con el VIH y que reciben TARV; representa en la actualidad un problema de salud, dado su potencial para incrementar el riesgo cardiovascular en estos pacientes pediátricos. Por otra parte, el tiempo de exposición a los fármacos antirretrovirales, en la población pediátrica, también representa un factor adicional que contribuye al desarrollo de estas complicaciones metabólicas, comprometiendo la adherencia y la supresión virológica en esta población [48].

A pesar de las características sociodemográficas e historia farmacológica similar, no todos los pacientes presentan la misma respuesta al TARV, lo que sugiere un importante papel de los factores genético. A este respecto, diversos estudios han documentado que el riesgo de desarrollar HTG, en pacientes infectados con el VIH y que reciben TARV está influenciado por conjuntos de SNPs (haplotipo) en *loci* específicos de genes relacionados con el metabolismo de lípidos. A la fecha no existen estudios en nuestro país, que demuestren cuál es la contribución de los SNPs rs662799 [-1131, T/C] y el rs964184 [C/G] del gen *APOA5*, así como de los SNPs rs2854117 [C/T], rs5128 [C/G] del gen *APOC3*, en el desarrollo de la HTG en población pediátrica Mexicana, con infección por VIH y que recibe TARV; por lo que resulta de gran interés, analizar el efecto de estos SNPs en *loci* específicos en un estudio longitudinal retrospectivo.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son las frecuencias genotípicas y alélicas de los SNPs rs662799 [-1131, T/C] y el rs964184 [C/G] del gen *APOA5*, así como de los SNPs rs2854117 [C/T], rs5128 [C/G] del gen *APOC3*, en la población pediátrica del Hospital de Pediatría “Silvestre Frenk Freund”, que vive con VIH y que recibe tratamiento antirretroviral?

¿Existen diferencias en el perfil de lípidos de los pacientes del Hospital de Pediatría “Silvestre Frenk Freund”, que viven con VIH y que recibe tratamiento antirretroviral, con base en el perfil genotípico y alélico de los SNPs rs662799 [-1131, T/C], rs964184 [C/G] SNPs rs2854117 [C/T] y rs5128 [C/G]?

JUSTIFICACIÓN

Se estima que uno de cada cuatro individuos recientemente infectados por el VIH y más de 100,000 que viven actualmente con el VIH tienen entre 13 y 24 años de edad [58]. El estudio de la enfermedad vascular relacionada con el VIH representa en la actualidad, un desafío importante para la salud pública, debido a los altos costos indirectos de la enfermedad vascular en los pacientes pediátricos y en jóvenes, ya que acelera la progresión de la enfermedad y conduce a una muerte prematura. Dado que la variabilidad individual en la respuesta y la toxicidad al TARV están estrechamente ligadas al fondo genético de los pacientes, particularmente en la susceptibilidad a los efectos adversos como la dislipidemia e HTG [57]; resulta de gran interés para nuestro grupo de investigación, analizar el efecto de los SNPs rs662799 [-1131, T/C] y el rs964184 [C/G] del gen *APOA5*, así como de los SNPs rs2854117 [C/T], rs5128 [C/G] del gen *APOC3*, en el desarrollo de la HTG en población pediátrica Mexicana a lo largo del tiempo.

Lo anterior, no solo tendría potencial para la estratificación de riesgo para el desarrollo de dislipidemia en estos pacientes con base en el haplotipo; sino también sería útil para guiar la prescripción individualizada del régimen antirretroviral, a fin de disminuir futuros eventos cardiovasculares, cuyo costo para las instituciones de salud es elevado y creciente.

En el Departamento de Enfermedades Infecciosas del Hospital de Pediatría “Silvestre Frenk Freund” del CMN s. XXI., del IMSS actualmente se atiende una población pediátrica de 80 pacientes con infección por VIH. Con el abordaje de este estudio, se busca guiar en un futuro, una elección más racional del tratamiento, basándose en el perfil genético de riesgo de HTG; previniendo en cierto grado la exposición prolongada a aquellos fármacos ARV con efectos desfavorables sobre el perfil de TG. La información basada en el haplotipo puede tener un amplio campo de aplicación para aquellos pacientes pediátricos con regímenes complejos de medicamentos y/o con escasas opciones terapéuticas.

OBJETIVO GENERAL

Comparar los niveles lipídicos de pacientes pediátricos del Hospital de Pediatría “Silvestre Frenk Freund”, que viven con VIH y que reciben tratamiento antirretroviral, con base en su perfil genotípico de los SNP rs662799, rs964184, rs2854117 y rs5128.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Conocer la frecuencia genotípica y alélica de los SNPs, rs662799 [-1131, T/C] y el rs964184 [C/G] del gen *APOA5*, así como de los SNPs rs2854117 [C/T], rs5128 [C/G] del gen *APOC3*, de la población pediátrica con VIH que atiende el Hospital de Pediatría.
2. Comparar el perfil de lípidos anual (CT, TG, LDL y HDL-c) de los pacientes pediátricos de acuerdo al esquema de tratamiento antirretroviral, durante el seguimiento de 5 años.
3. Comparar el perfil de lípidos anual (CT, TG, LDL y HDL-c) de los pacientes pediátricos de acuerdo con el genotipo de los SNPs, rs662799 [-1131, T/C] y el rs964184 [C/G] del gen *APOA5*, SNPs rs2854117 [C/T], rs5128 [C/G] el gen *APOC3*, durante el seguimiento de 5 años.

HIPÓTESIS:

La frecuencia de dislipidemia será mayor en aquellos pacientes pediátricos, que viven con VIH, que reciben tratamiento antirretroviral y que presentan los SNPs rs662799 [-1131, genotipo CC], rs964184 [genotipo GG], SNPs rs2854117 [genotipo TT] y rs5128 [genotipo GG].

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO DE ESTUDIO

Objetivo 1: Estudio transversal descriptivo

Objetivo 2 y 3: Estudio de cohorte retrospectivo

LUGAR Y SITO DEL ESTUDIO

El estudio se llevó a cabo en, en el Servicio de Infectología Pediátrica y en la Unidad de Investigación en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, de la UMAE Hospital de Pediatría del CMN SXXI del IMSS.

UNIVERSO DE ESTUDIO

Todos los niños que viven con VIH, entre 5 y 17 años que acudan a su consulta en el Servicio de Infectología Pediátrica, que reciban tratamiento antirretroviral (TARV), en el Hospital de Pediatría CMN s.XXI., con historial farmacológico completo, con registros periódicos (semestral), durante 5 años previos a la fecha de recolección de la muestra y que acepten participar en el estudio.

TAMAÑO DE MUESTRA:

Por conveniencia, no probabilístico. Se incluirán a todos los pacientes pediátricos, infectados con VIH-1 entre 5 y 17 años, que cumplan los criterios de elegibilidad, que acudan a su consulta en el Servicio de Infectología Pediátrica, que reciban tratamiento antirretroviral (TARV), en el Hospital de Pediatría CMN s.XXI., y que acepten participar firmando la carta de consentimiento informado y el asentimiento informado.

CRITERIOS DE ELEGIBILIDAD:

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. Pacientes pediátricos Mexicanos (edad 5-17 años) ambos géneros, que viven con VIH y que reciben TARV, que se dispongan datos completos de su historial farmacológicos durante 5 años previos a la toma de muestra.
2. Pacientes pediátricos, cuyos padres o tutor (es) hayan firmado Carta de Consentimiento Informado (Anexo I) y que el menor haya manifestado su asentimiento (Carta de asentimiento, Anexo II).
3. Pacientes pediátricos con historial farmacológico completo de TARV y con datos de perfiles lipídicos semestral, durante 5 años previos a la fecha de toma de muestra sanguínea.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Pacientes con expediente incompleto.
2. Pacientes que padezcan atrofia muscular como consecuencia de enfermedad neurológica.
3. Pacientes que utilicen medicamentos que modifiquen los niveles de colesterol y triglicéridos, glucemia central y que estos medicamentos no correspondan a HAART, por ejemplo, insulina, corticosteroides.
4. Pacientes con apego al TARV menor del 80%, documentado en su expediente clínico.
5. Enfermedad postrante en los 6 meses previos a la inclusión en el estudio.
6. Pacientes que no cuenten con datos laboratorio (BH, perfil lipídico completo, química sanguínea, cuenta de linfocitos CD4+ y CD8+.
7. Pacientes que no cuenten con somatometría completa (perímetro de la cintura, etc., IMC, peso corporal, talla). Pacientes con apego irregular al TARV o que hayan abandonado el tratamiento antirretroviral dentro de los 6 meses previos.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

1. Pacientes que no acepten participar en el estudio o que se retiren voluntariamente.
2. Pacientes, cuya muestra sanguínea sea insuficiente y que pueda limitar la extracción de DNA genómico íntegro para la genotipificación de los SNPs

DEFINICIÓN DE VARIABLES

Tabla 1. Variables del presente estudio

VARIABLE	DEFINICIÓN	CATEGORÍA	TIPO DE VARIABLE
Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP)	Cambios en la secuencia de nucleótidos que ocurren en los 3 billones de pares de bases (pb) del genoma humano y en un promedio de cada 1900pb. Pueden afectar la expresión génica (fenotipo). La mayoría de los SNPs son raros (definidos arbitrariamente con una frecuencia alélica menor de 5%)	APOA5 rs662799 [T/C] T/C Riesgo moderado, T/T riesgo bajo, C/C Riesgo alto APOA5 rs964184[C/G] C/C riesgo bajo, C/G riesgo moderado, G/G riesgo alto rAPOC3 s2854117 [C/T] C/C riesgo bajo, C/T riesgo moderado, T/T riesgo alto rAPOC3 s5128 [C/G] C/C riesgo bajo, C/G riesgo moderado, GG riesgo alto APOC3 rs2854116 T/T riesgo bajo, T/C riesgo moderado, C/C riesgo alto	Cualitativa Nominal
Dislipidemia	Alteración en los niveles plasmáticos de lípidos ya sea de manera aislada o combinada, a expensas del incremento de Triglicéridos, Colesterol Total, LDL y una disminución en los niveles de HDL, los cuales serán empleados como variables subrogadas. Estas alteraciones pueden ser determinadas por única vez o múltiples veces durante el seguimiento de 5 años.	Triglicéridos >200mg/dL Colesterol Total >200mg/dL HDL <40mg/dL para mujeres y <50 mg/dL para hombres LDL >160mg/dL	Cuantitativa nominal
Tabaquismo	Hábito de fumar tabaco	Sí (activo o pasivo) No	Cualitativa nominal
Edad	Tiempo transcurrido e años a partir del nacimiento.	Años	Cuantitativa continua
Género	Conjunto de características fenotípicas y genotípicas que distinguen a hombres y mujeres.	Masculino Femenino	Cualitativa nominal
Índice de masa corporal	Indicador de la relación entre el peso y la talla empleada para identificar el sobrepeso y la obesidad. Se calcula dividiendo el peso de una persona en kilos por el cuadrado de su talla en metros (kg/m ²).	<19 kg/m ² Peso bajo 20-24 kg/m ² Normal >25 kg/m ² sobrepeso >30 kg/m ² obesidad	Cuantitativa continua
Cuenta de linfocitos T CD4	La cantidad de linfocitos TCD4+, refleja el estado inmunológico del paciente con VIH	>0	Cuantitativa continua
Carga viral	Número de copias de ARN del VIH por milímetro de sangre.	< 50 copias/mL (indetectable en indicador de supresión viral) 199 - 50 copias/mL (viremia de bajo nivel o supresión virológica incompleta) > 200 copias/mL (falla virológica)	Cuantitativa continua
Fármacos antiretrovirales	Grupo de fármacos empleados en el tratamiento para VIH	Abacavir/Emtricitabina/Lamivudina Tenofovir/Zidovudina Efavirenz/Nevirapina/Etravirina/Rilpivirina Altazanavir/Darunavir/Lopinavir/Ritonavir Raltegravir/Dolutegravir/Elvitegravir	Cualitativa nominal

PLAN GENERAL DE TRABAJO

1. Se seleccionaron a los pacientes que cumplieron con los criterios de
2. inclusión y que aceptaron participar (Etapa de reclutamiento de pacientes pediátricos).
3. Se obtuvieron datos del expediente clínico.
4. Se recuperó el volumen sanguíneo del tubo inicialmente destinado a la cuantificación de la carga viral y este volumen se empleó para la extracción de DNA genómico (Etapa de Elaboración de Banco de DNAg).
5. Análisis genotípico mediante ensayos de discriminación alélica.
6. Revisión de datos de perfil lipídico para la integración de resultados.
7. Análisis estadístico de resultados.
8. Emisión de resultados.

RECLUTAMIENTO DE PACIENTES PEDIÁTRICOS

Se seleccionaron pacientes pediátricos con infección por VIH, que acudieron a su consulta médica al Servicio de Infectología pediátrica de la UMAE Hospital de pediatría “Silvestre Frenk Freund” y que cumplieron con los criterios de selección. Posteriormente, a los padres o tutores de los pacientes seleccionados se les explicó el objetivo del estudio y quienes aceptaron la participación e inclusión de su hijo en el mismo, firmaron la Carta de Consentimiento Informado (Anexo I), mientras que su hijo o menor firmó la Carta de Asentimiento Informado (Anexo II). Los datos demográficos, clínicos (historial farmacológico de TARV) y de laboratorio (perfil lipídico completo de TG, LDL-c, HDL-c, VLDL) se obtuvieron del expediente clínico y se recabaron en el cuestionario (Anexo V).

ELABORACIÓN DE BANCO DE DNAg

Para el seguimiento del paciente pediátrico con tratamiento antirretroviral, están indicada la toma de una muestra de sangre para la cuantificación de la carga viral de RNA viral de VIH en plasma, antes y 4-8 semanas después del inicio del TARV y después cada 3-4 meses [89]. De esta manera y sin la necesidad de realizar una toma de muestra adicional a la que se realiza para la CV, la muestra de sangre

residual y que contiene el paquete celular, se llevó al laboratorio de Virología, de la Unidad de Investigación en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias a fin de realizar la extracción de DNA genómico empleando el estuche comercial QIAamp DNA Blood Mini Kit (250) de la marca QIAGEN®, siguiendo las instrucciones del proveedor. Este procedimiento, que evita la toma de una muestra adicional en el paciente pediátrico; permitió aprovechar la muestra de sangre residual, sin necesidad de practicar más métodos invasivos.

Una vez purificado el DNAg, este se cuantificó por espectrofotometría en un equipo Nanodrop 2000 Marca Thermo®, y se evaluó su integridad y pureza. Todas las muestras de DNAg se congelaron a -20°C hasta su uso en el análisis genotípico.

ANÁLISIS GENOTÍPICO

La genotipificación de SNPs, se llevó a cabo, de acuerdo a lo descrito por Bautista-Martínez et al., [73]. El DNA genómico templado se usó para los ensayos de discriminación alélica por medio de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR), usando sondas de hidrólisis alelo-específicas TaqMan® de la marca Applied Biosystems® con química de reacción [VIC/FAM] (tabla 1), todas de la marca Applied Biosystems®. Se empleó un sistema *Singlex* para la detección de cada SNP. Cada reacción consistió en el uso de 5µL de Maxima Probe qPCR Master Mix (2x) (Thermo Scientific®), 2.25µL de agua grado biología molecular, 0.25 µL de las sondas de hidrólisis alelo-específicas para cada uno de los SNPs de interés. Se usaron 15-18 ng de DNA genómico de cada paciente pediátrico, en un volumen final de 10 µL de reacción. La reacción se llevó a cabo en un equipo Rotor-Gene Q real-time PCR cycler (QIAGEN®), empleando el programa de temperaturas de 95°C por 10 min (hold), seguido de 40 ciclos de 92°C por 15 s y 60°C durante 1 min (cycling). Cada corrida para el análisis de los SNP, incluyó 3 controles negativos sin templado (NTC, Non Template Control) y 3 controles positivos con templado (PTC, Positive Template Control), siendo estos últimos muestras cuya genotipo ha sido caracterizado a través de secuenciación nucleotídica automatizada (Sanger).

Tabla 2. Sondas de hidrólisis alelo-específicas para la detección de las variantes genéticas o SNPs de interés.

Gen	SNP	Secuencia reconocida por la sonda TaqMan®, 5' → 3', en el contexto [VIC/FAM]	No. de catálogo del ensayo prediseñado, Applied Biosystems®
APOA5	rs662799 [T/C]	GAGCCCCAGGAACTGGAGCGAAAGT[A/G]AGATTTGCCCATGAGGAAAAGCTG	C__2310403_10
APOA5	rs964184 [C/G]	TCACCATCTGATGTACTGTTTTCT[C/G]ATCTGTTTATTGTCATTTTTCCCA	C__8907629_10
APOC3	rs2854117 [C/T]	AGGCCTTGCCGGAGCCACTGATGCC[T/C]GGTCTTCTGTGCCTTTACTCCAAAC	C_12081483_20
APOC3	rs5128 [C/G]	AAGTCCACCTGCCTATCCATCCTGC[C/G]AGCTCCTGGGTCTGCAATCTCCA	C__8907537_1_

Como parte de los procesos de control de calidad, el genotipado de un subgrupo de muestras (10%), fue validado mediante secuenciación nucleotídica automatizada de DNA, empleando un estuche de reacción Kit Secuenciación BigDye de la marca Applied Biosystems®, con los primers señalados a la Tabla 2 y de acuerdo a los descrito [73, 75]. Un resumen de la metodología que se empleó, se presenta en la figura 1.

Tabla 3. Oligonucleótidos propuestos para amplificar las regiones que contienen los SNPs de interés.

Gen	SNP	Oligonucleótidos (5' → 3')	Programa de temperaturas	Tamaño del producto (pb)
APOA5	rs662799	Fw: 5' CCA ACC ACA TCC CTCTTT ATG AA 3' Rv: 5'GAC CAA GAA TCG GGA GCT TGT GA 3'	94°C, 1 min. 35 ciclos: (94°C, 1min, 56.6°C, min, 72°C, 1min), 72°C, 10min 4°C, ∞	266
APOA5	rs964184	Fw: 5'GTC AAA TTA TCA CCT TCT TGT TCA G 3' Rv: 5' CAG CAG ATG CTT GCT TAT CTA C 3'	94°C, 1 min 35 ciclos (94°C, 1min, 53.3°C, 1min, 72°C, 1min), 72°C, 10min 4°C, ∞	237
APOC3	rs2854117	Fw: 5'CTT GGC TTC TCC ACC AAC 3' Rv: 5' TCG CTG GAT TGA AAC CCA G 3'	94°C, 1 min 35 ciclos (94°C, 1min, 58.5°C, 1min, 72°C, 1min), 72°C, 10min 4°C, ∞	200

APOC3	rs5128	Fw: 5'TTC TTG TCC AGC TTT ATT GGG AGG 3' Rv: 5'GAC AGG TTC TCT GAG TTC TGG GAT T 3'	94°C, 1 min 35 ciclos (94°C 1min, 56.5°C 1min, 72°C 1min) 72°C, 10min 4°C, ∞	333
-------	--------	--	--	-----

Abreviaturas: Primer sentido (Fw), primer antisentido (Rv)

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calcularán las frecuencias alélicas y genotípicas de cada SNP. Para analizar los cambios en las concentraciones de TG, LDL y HDL-c en función de cada genotipo y alelo, se construyeron gráficos de acuerdo a lo previamente descrito [46]. Se realizó un análisis descriptivo de acuerdo con la escala de medición de cada variable. Para las variables con escala de medición cuantitativa se realizaron medidas de tendencia central, ya que no tuvieron distribución normal y se analizaron mediante la prueba de Shapiro-Wilk. En el caso de las variables cualitativas nominales, estas se expresaron como porcentajes y frecuencias simples.

El Anexo III muestra el cronograma de actividades y las etapas de la presente propuesta.

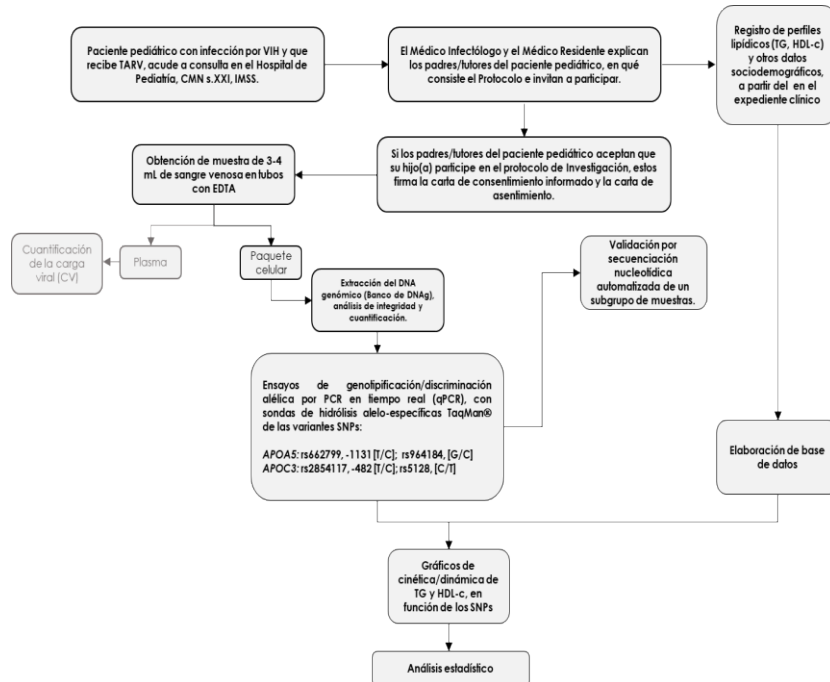


Figura 1. Flujograma de trabajo que se empleará para el desarrollo del presente protocolo

CONSIDERACIONES ÉTICAS

De acuerdo con la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, publicada en 1984 y con las actualizaciones hasta 2013 (última reforma publicada por el Diario Oficial de la Federación el 24-Abril-2013) [78], Título Segundo De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos, Capítulo I, Artículo 17; la presente investigación se consideró dentro de la categoría II Investigación con riesgo mínimo, ya que solo implicó emplear el botón celular residual de la muestra sanguínea, cuya fracción plasmática se destina a la cuantificación de la carga viral que se realiza de manera rutinaria. También se considera el Capítulo III, artículos 34, 35, 36 y 39 referente a la investigación en pacientes menores de edad, que considera realizar investigaciones en menores de edad, asegurando que previamente se han hecho estudios semejantes en personas de mayores de edad y en animales inmaduros, excepto cuando se trate de estudiar condiciones que son propias de la etapa neonatal o padecimientos específicos de ciertas edades; después de obtenerse por escrito el consentimiento informado de quienes ejerzan la patria potestad o la representación legal del menor del que se trate y considerando en todo momento que el titular de la institución de atención a la salud establecerá una supervisión estricta para determinar si aumenta la magnitud de los riesgos previstos o surgen otros y suspenderá la investigación en el momento en que el riesgo pudiera afectar el bienestar biológico, psicológico o social del menor.

Por otra parte, para la presente investigación, se consideran los nuevos artículos 103, 103 bis 1 y hasta el 103 bis 7, CAPÍTULO ÚNICO acerca de estudios sobre El Genoma Humano; así como el artículo 317 Bis 1.- sobre el material genético a que se refiere el artículo anterior no podrá ser utilizado para finalidades distintas o incompatibles con aquellos que motivaron su obtención. También para la presente Investigación se considera el TITULO QUINTO, Investigación para la Salud, CAPITULO UNICO, artículos 96, 100; de reciente introducción a la Ley General de Salud, en su última actualización en Julio de 2018 [78].

La presente Investigación también será conducida de acuerdo a los criterios para la ejecución de proyectos de Investigación para la salud en seres humanos, establecida por la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012 [79].

La presente investigación se realizó en población menor de 18 años. Los principios éticos fundamentales, en cuanto a la conducta ética a seguir, se aplicaron eficazmente de acuerdo a la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial de 1964 y las actualizaciones subsecuentes de 1975, 1983, 1989, 1996, 2000, 2004, 2008 y la última en 2013 [80].

Historia Clínica del paciente y confidencialidad de los datos.

Todos los datos obtenidos de la historia clínica se han manejado de manera estrictamente confidencial por personal autorizado, con la finalidad de resguardar los nombres, datos personales de los pacientes [81]. Asimismo, el presente estudio se llevó a cabo en el marco de la Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos [82]. Los datos registrados en el instrumento de recolección correspondiente (ver Anexo V), se codificaron y se vaciaron en una hoja de cálculo con fines de análisis estadístico.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO (Anexo I), CARTA DE ASENTIMIENTO (Anexo II) y condiciones en las cuales se le solicita.

En estricto apego a la Normativa Institucional en materia de Investigación, el Médico Infectólogo y el Médico residente, después de realizar la selección de los pacientes que cumplieron los criterios de inclusión para el presente protocolo; estableció diálogo con los padres o tutores del paciente, a fin de obtener su consentimiento informado y la firma del mismo para participar en el presente estudio (Carta de consentimiento informado, Anexo I). Asimismo, se le preguntó al menor si deseaba participar y en caso afirmativo, se le proporcionó una carta de asentimiento para recabar su firma. A los padres o tutores, se les explicó que todos los datos obtenidos en relación al caso clínico de su hijo, serán estrictamente confidenciales, por lo que

serán estrictamente resguardados por los Médicos tratantes. A este respecto, la única identificación asignada para la muestra de sangre obtenida consistió en la asignación de un folio interno, para el manejo de la misma en la Unidad de Investigación en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias. La información y conocimiento obtenido después de su análisis molecular, le permitirá al médico conocer si el paciente pediátrico presenta un perfil genético de riesgo para desarrollar la dislipidemia en el corto y mediano plazo (5 años). Esta información resultará de gran importancia, ya que la dislipidemia contribuye en gran medida al riesgo cardiovascular en esta población de pacientes. De esta manera, el beneficio que puede ofrecer el presente estudio se verá reflejado en la estratificación de riesgo del paciente, aspecto importante a considerar para futuro y alternativos tratamientos del paciente que vive con la infección por VIH y que recibe tratamiento antirretroviral.

ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD (Anexo IV)

Debido a que la infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), constituye, por su magnitud y trascendencia, un grave problema de salud pública a nivel mundial y en México; como personal de salud y de Investigación, para llevar a cabo el presente protocolo de investigación, fue necesario atender las Normas Oficiales Mexicanas, cuyas disposiciones son de orden público e interés social y por tanto de observancia obligatoria, mismas que son detalladas en el anexo IV, adjunto a este Protocolo y con base en lo revisado en las referencias [81,82, 84, 85, 86].

Asimismo, para el desarrollo del presente protocolo, se llevó a cabo en apego estricto a la NORMA Oficial Mexicana NOM-010-SSA2-2010 [83], la NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002 de Protección ambiental Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico-infecciosos-Clasificación y especificaciones de manejo [84] y la Guía de Práctica para la Prevención, diagnóstico y tratamiento de la exposición laboral al VIH en trabajadores de la salud [85, 86].

RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD

RECURSOS HUMANOS

Dr. Guillermo Vázquez Rosales. Médico Infectólogo Pediatra del Hospital de Pediatría, CMN s.XXI. Participó en la elaboración y diseño del presente estudio. Supervisó el desarrollo del proyecto.

Dra. Ericka Nelly Pompa Mera. Investigadora Asociada de la Unidad de Investigación en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, CMN s. XXI. Participó en la elaboración y diseño del presente estudio. Supervisó los procesos de laboratorio y la generación de resultados.

Dra. Guadalupe Gordillo Pérez. Investigadora Asociada de la Unidad de Investigación en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, CMN s. XXI. Participó en la elaboración y diseño del presente estudio. Participó y supervisó el análisis de resultados.

RECURSOS FÍSICOS

La presente tesis se desarrolló en el Servicio de Infectología Pediátrica del Hospital de Pediatría, CMN s. XXI., así como en las instalaciones del laboratorio de Virología de la Unidad de Investigación en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, CMN s. XXI., del IMSS.

FINANCIAMIENTO

Para el desarrollo del presente estudio, se contó con el apoyo parcial del financiamiento CONACyT-FONSEC-221632.

RESULTADOS

En el presente estudio, se incluyeron 21 niños atendidos en el Servicio de Infectología Pediátrica del Hospital de Pediatría, “Silvestre Frenk Freund” y quienes fueron diagnosticados con infección por VIH-1 perinatal, y que, al momento del reclutamiento, recibían tratamiento antirretroviral (TARV). Las características generales al inicio del TARV se muestran en la Tabla 4. Ninguna de las variables cuantitativas del estudio mostró distribución normal mediante la prueba de Shapiro-Wilk ($p \leq 0.05$). Asimismo, en la tabla 5 se muestran las características por paciente expresando las variables cuantitativas con mediana, los genotipos expresados por paciente y la TARV más frecuente durante el análisis longitudinal. La figura 2 muestra la pirámide de población, por género y edad, que nos muestra un total 15 hombres (71.4%) y 6 mujeres (28.6%) con una edad de 3 a 18 años y una mediana de 10 años. Por su parte, la figura 3 nos muestra un histograma de frecuencias con el índice de masa corporal (IMC) de la población de estudio, en donde es posible apreciar que existe una mayor frecuencia de peso bajo (IMC < 17.5 kg/cm²).

Característica	
Género ^a	
Mujeres	15 (71.4%)
Hombres	6 (28.6%)
Edad (años)	Me = 10
Peso (Kg)	Me = 27.3
Talla (cm)	Me = 125
IMC [kg]/m ²	Me = 17.5
CV [copias/mL] antes del inicio del TARV	Me = 1,556
T CD4+ (cel/mL)	Me = 1,032

Tabla 4. Características de la población pediátrica
Mediana (Me)

^a Los valores son presentados como frecuencia y porcentajes.

Características de los pacientes pediátricos con VIH en TARV

PACIENTE	GENERO	IMC [kg]/m2]	APOA5 rs662799	APOA5 rs964184	APOA5 rs964184	APOC3 rs5128	COLESTEROL TOTAL (mg/dl) (Me)	COLESTEROL LDL (mg/dl) (Me)	COLESTEROL VLDL (mg/dl) (Me)	TRIGLICERIDOS (mg/dl) (Me)	CARGA VIRAL [copias/mL] (Me)	TARV
1	M	14	T/T	C/C	C/T	C/C	218.7	104.1	35	185	57	LMV/ZDV/LPV/r
2	H	20.3	T/T	C/C	C/C	C/C	218.7	104.1	35	185	57	LMV/ZDV/LPV/r
3	M	21.2	T/T	C/C	C/C	C/G	174	71.57	26.4	157.15	35	LMV/ZDV/LPV/r
4	H	20.6	T/C	C/G	C/T	C/G	159.45	80.68	29.8	155	35	LMV/ZDV/LPV/r
5	M	15.3	T/T	C/G	C/T	C/G	122.6	49.75	31	155	853.725	LMV/ZDV/LPV/r
6	H	28.8	T/C	C/G	C/T	C/G	168.9	83.5	30	148	0	LMV/ZDV/LPV/r
7	M	17.4	T/T	C/G	C/C	C/C	125.5	38	29	145	1327.385	LMV/ZDV/LPV/r
8	M	15.3	T/C	G/G	C/T	C/G	189.2	117.6	25.1	125.5	35	LMV/ABC/LPV/r
9	M	14.7	T/T	C/C	C/T	C/G	139.05	54.195	24.9	124.5	9868	ddl/d4T/NVP/LPV/r
10	H	19.8	T/T	C/C	C/T	C/C	107.55	46.3	25	123	19416.5	LMV/ZDV/LPV/r
11	M	19.1	T/T	C/C	C/C	C/C	152.7	82.5	23.8	119	120	LMV/ZDV/LPV/r
12	M	26.0	T/T	C/C	C/C	C/C	142	67.6	20.2	101	35	LMV/ZDV/LPV/r
13	H	17.4	T/C	G/G	C/T	C/G	191.4	122.655	19.9	99.5	35	LMV/ZDV/LPV/r
14	M	18.8	T/C	C/G	C/T	C/G	146.6	83.7	19.4	97	355.92	ABC/RAL/DRV/r
15	M	20.3	T/T	C/G	C/T	C/G	133.7	33.57	18	90	804.5	LMV/ZDV/LPV/r
16	M	20.2	T/T	C/C	C/C	C/C	147	81.8	17.4	87	753	EFV/LMV/TDF
17	M	17.7	T/C	C/G	T/T	C/G	172.9	88.2	16.6	83	35	EFV/RAL/LPV/r
18	M	23.4	T/T	C/G	C/C	C/C	194.7	95.7	16.2	81	5872.5	LMV/ZDV/LPV/r
19	H	15.4	T/C	C/G	C/T	C/C	136.1	55.6	15.8	79	89	LMV/ZDV/NVP
20	M	15.4	T/T	C/C	C/C	C/C	136.1	55.6	15.8	79	89	ETV/ZDV/RAL/MVR
21	M	18.9	T/T	C/C	C/T	C/C	170.5	83.5	13.9	74	493.22	ZDV

Tabla 5. Características por paciente con VIH en TARV

Mediana (Me)

LMV=lamivudina, ZDV= zidovudina, ABC=abacavir, ddl=didanosina,
d4T=estavudina, TDF=tenofovir, EFV=efavirenz, NVP=nevirapina,
ETV=etravirina, MVR=maraviroc, LPV/r=lopinavir/ritonavir,
DRV=darunavir, RAL=raltegravir.

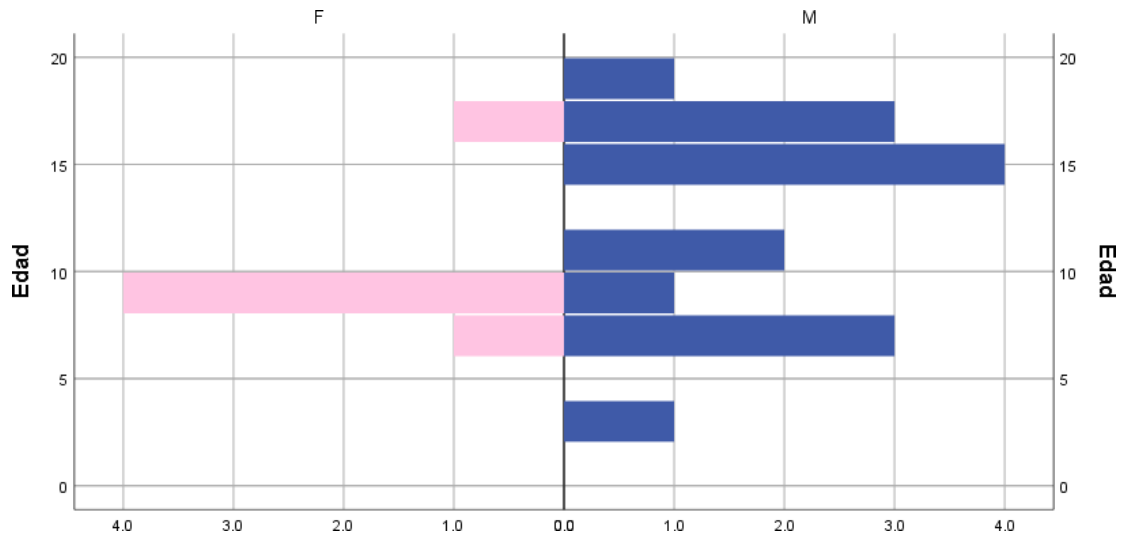


Figura 2. Histograma de género y edad. F=femenino, M= masculino

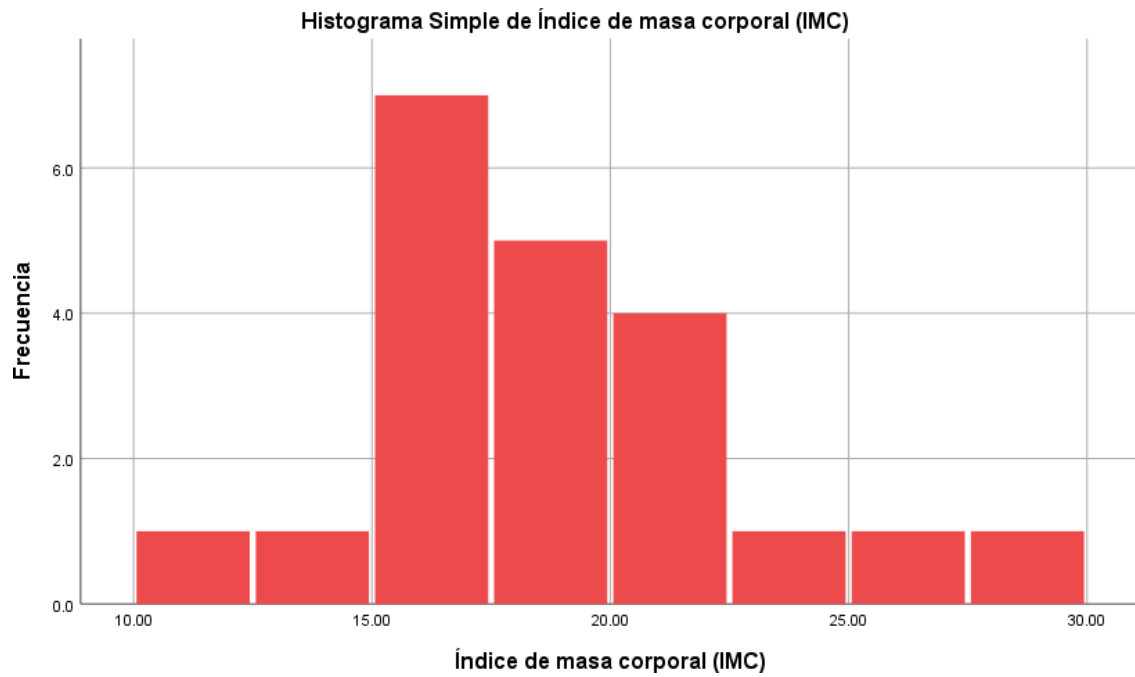


Figura 3. Histograma del Índice de masa corporal en la muestra.

Por otra parte, el esquema antirretroviral más utilizado (61.9%) para el tratamiento de la infección por VIH, en la población de estudio, fue LMV/ZDV/LPV/r (Tabla 6).

Tabla 6. Distribución de los regímenes de Tratamiento antirretroviral (TARV) en la población pediátrica de estudio

TARV	N	Porcentaje (%)
LMV/ZDV/LPV/r	13	61.9
ABC/RAL/DRV/r	1	4.76
ddl/d4T/NVP/LPV/r	1	4.76
EFV/LMV/TDF	1	4.76
EFV/RAL/LPV/r	1	4.76
LMV/ZDV/NVP	1	4.76
LMV/ABC/LPV/r	1	4.76
ETV/ZDV/RAL/MVR	1	4.76
ZDV	1	4.76

LMV=lamivudina, ZDV= zidovudina, ABC=abacavir, ddl=didanosina, d4T=estavudina, TDF=tenofovir, EFV=efavirenz, NVP=nevirapina, ETV=etravirina, MVR=maraviroc, LPV/r=lopinavir/ritonavir, DRV=darunavir,RAL=raltegravir.

En relación a las frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes genéticas estudiadas en los 21 pacientes, a través de la tabla 7 es posible observar que el genotipo TC del SNP *APOA5* rs662799 considerado de riesgo moderado, se encontró en un 33.3%. Por su parte, el genotipo TT (variante ancestral y reportada como protectora), se encontró con una frecuencia del 66.7%.

El genotipo CC protector, del SNP *APOA5* rs964184 se encontró en 42.9%, genotipo CG de riesgo moderado en un 46.6%.

El SNP *APOC3* rs2854117 contó en un 33% de genotipo protector CC y en un 13% de riesgo moderado CT. El genotipo protector TT del SNP *APOC3* rs2854116 se encontró en un 47.6%, genotipo de riesgo moderado 52.4%. En cuanto al SNP *APOC3* rs5128 contó con genotipo protector CC en un 47.6%, de riesgo moderado de CG 52.4%.

No se identificaron los genotipos de riesgo *APOA5* rs662799 CC, *APOC3* rs2854116 CC, ni *APOC3* rs5128 GG en la población de este estudio; los cuales han sido asociados a hipertrigliceridemia.

Se observaron genotipos de riesgo en el SNP APOA5 rs964184 y APOC3 rs2854117 con un porcentaje de 9.5% y 4.76% respectivamente.

Tabla 7. Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en la población de estudio

Variante genética	Alelo/genotipo	N	%
APOA5 rs662799 [T/C]	TT	14	66.7
	TC	7	33.3
	CC	0	0.0
APOA5 rs964184 [C/G]	CC	9	42.9
	CG	10	47.6
	GG	2	9.5
APOC3 rs2854117 [C/T]	CC	7	33.3
	CT	13	61.9
	TT	1	4.76
APOC3 rs2854116 [T/C]	TT	10	47.6
	TC	11	52.4
	CC	0	0.0
APOC3 rs5128 [C/G]	CC	10	47.6
	CG	11	52.4
	GG	0	0.0

Respecto a las mediciones seriadas cada 3 meses, en la tabla 8 se muestran los datos de glucemias de con una mediana de 84.2 mg/dl; la colesterolemia con mediana de 161.8 mg/dl. La trigliceridemia con una mediana de 124.0 mg/dl. El colesterol LDL mediana de 67.5 mg/dl. El colesterol VLDL mediana de 22.2 mg/dl y el HDL fue de una mediana de 57.8 mg/dl.

Tabla 8. Resultados de laboratorio de la población de estudio.

Variable	
Glucosa (mg/dl)	Me = 84.2
Colesterol (mg/dl)	Me = 161.8
Colesterol LDL (mg/dl)	Me = 67.5
Colesterol VLDL [md/dl]	Me = 22.2
Colesterol HDL [md/dl]	Me = 57.8
Trigliceridos (mg/dl)	Me = 147.9

*Abreviaturas: Mediana (Me)

Por otra parte, se efectuaron mediciones seriadas cada 3 meses de glucemia y perfil de lípidos (Colesterol total, HDL-c, LDL-c y TG). Un porcentaje importante (61.9%) presentó alteraciones en los niveles plasmáticos de TG (Tabla 9). Del total de pacientes, se observó que 7 presentaron en algún momento del seguimiento al menos una cifra de colesterolemia mayor o igual a 200 mg/dl (33.3%); 13

presentaron una o más cifras de trigliceridemia mayor o igual a 150 mg/dl (61.9%); 3 pacientes presentaron una o más cifras de colesterolemia LDL mayor o igual a 130 mg/dl (14.3%) y 7 presentaron una o más cifras de colesterolemia HDL menor o igual a 40 mg/dl (33.3%).

Tabla 9. Frecuencia de las alteraciones del perfil lipídico en el seguimiento

Variable lipídica			Recuentos	Porcentaje (%)
Colesterol >200mg/dl	Total	Sí	7	33.3%
		No	14	66.7
Colesterol >130mg/dl	LDL	Sí	3	14.3
		No	18	85.7
Colesterol <40mg/dl	HDL	Sí	7	33.3
		No	14	66.7
Triglicéridos >150mg/dl		Sí	13	61.9
		No	8	38.1

Las cifras de colesterol total, colesterol HDL, colesterol VLDL y triglicéridos no fueron significativamente diferentes entre los portadores de los alelos de *APOA5* rs662799 mediante la prueba U de Mann-Whitney; sin embargo, sí se observaron diferencias estadísticamente significativas en las cifras de colesterol LDL en los diferentes portadores de los alelos de *APOA5* rs662799 ($p = 0.040$), encontrándose que el colesterol LDL en los pacientes con el genotipo TC riesgo moderado, fue una mediana de 86.3 mg/dl, mientras que en los pacientes con el genotipo TT variante protectora la mediana fue de 69.9 mg/dl (U de Mann-Whitney = 18.5, $p = 0.040$) (Figura 4). En la población de estudio, no se encontró el genotipo de riesgo CC para esta variante genética.

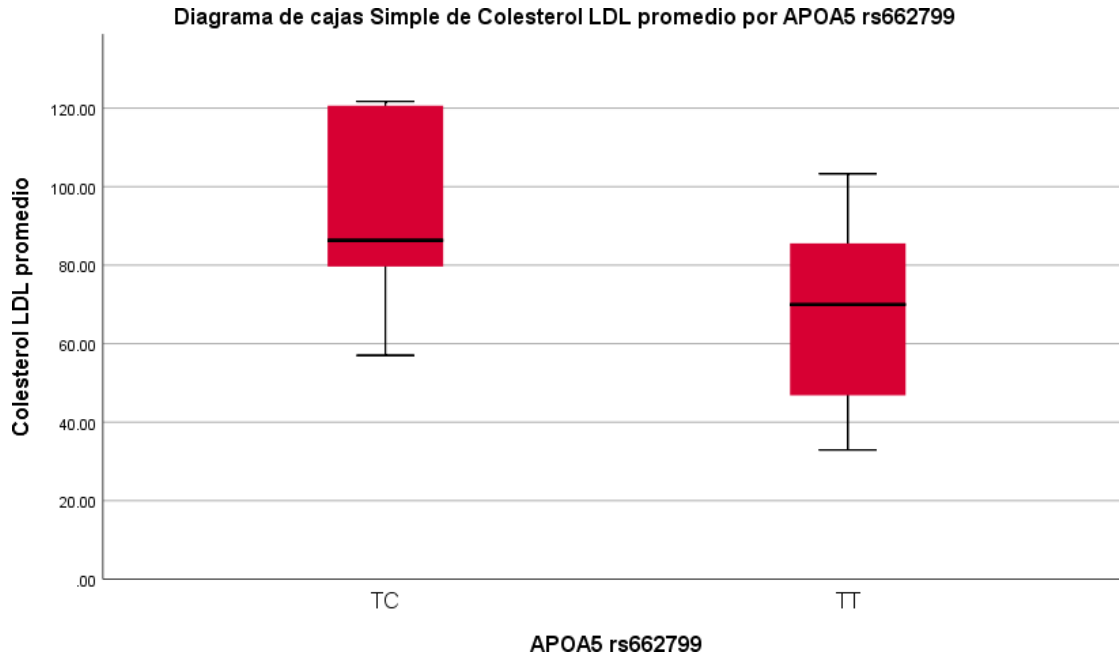


Figura 4. Colesterol LDL en los pacientes portadores de según variantes genéticas del SNP rs662799 [T/C] del gen *APOA5*.

En el seguimiento el colesterol total, colesterol HDL, colesterol VLDL y triglicéridos no se encontró una diferencia significativa entre los pacientes portadores de los alelos de *APOA5* rs964184, mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Sin embargo, sí se observaron diferencias estadísticamente significativas en las cifras de colesterol LDL en los portadores de los alelos de *APOA5* rs964184 ($p=0.049$), encontrándose que el colesterol LDL en los pacientes con genotipo CC variante protectora la mediana fue de 71.7 mg/dl. Por su parte, en los pacientes con genotipo CG de riesgo moderado la mediana fue de 79.6 mg/dl; mientras que en los pacientes con el genotipo GG variante de riesgo alto la mediana fue de 121.2 mg/dl (H de Kruskal-Wallis = 5.2, $p = 0.049$) (Figura 5).

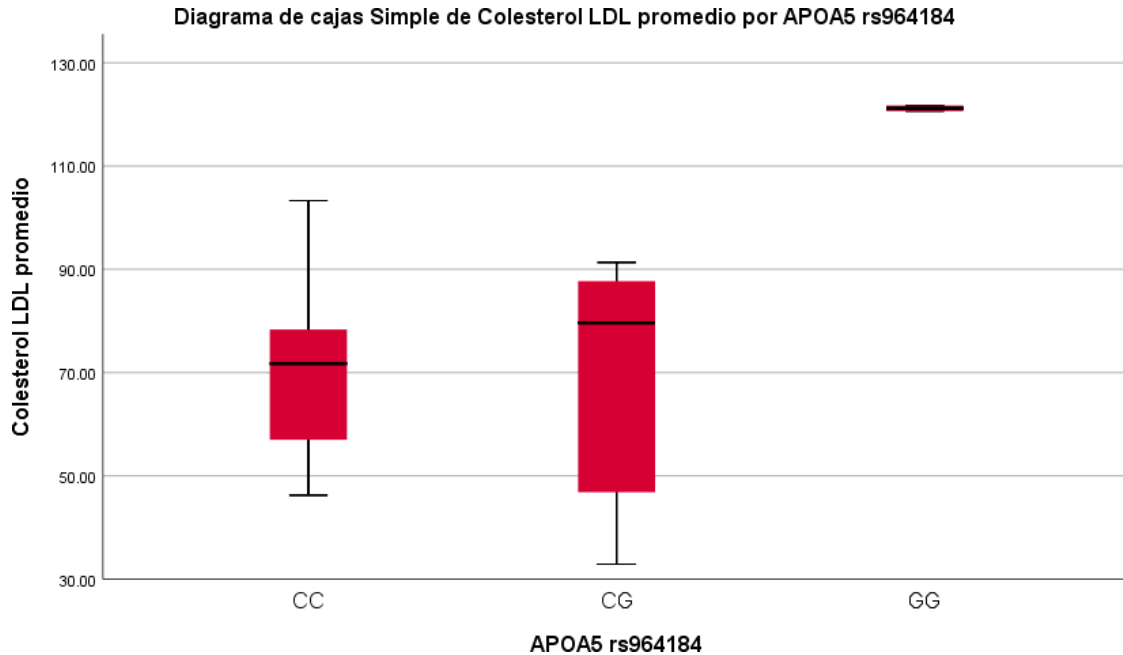


Figura 5. Niveles plasmáticos de colesterol LDL, en los pacientes portadores de las variantes genéticas del SNP rs964184 [C/G] del gen APOA5.

El colesterol total, colesterol LDL y colesterol HDL no fueron significativamente diferentes entre los genotipos de *APOC3* rs5128 mediante la prueba de U de Mann-Whitney; sin embargo, sí se observaron diferencias estadísticamente significativas en las cifras de triglicéridos en los diferentes genotipo de *APOC3* rs5128 ($p = 0.029$), encontrándose que la mediana de triglicéridos en los pacientes con genotipo CC variante protectora fue de 97.9 mg/dl, mientras que en los pacientes con genotipo CG variante de riesgo moderado la mediana de 129.1 mg/dl, no se encontró genotipo de riesgo alto. (U de Mann-Whitney = 27.0, $p = 0.029$) (Figura 6). Asimismo se observaron diferencias estadísticamente significativas en el colesterol VLDL en los pacientes portadores de los genotipos del SNP rs5128 de *APOC3*, ($p = 0.01$), observando que el colesterol VLDL en los pacientes con genotipo CC variante protectora fue con una mediana de 19.6 mg/dl, mientras que para los pacientes con genotipo CG de riesgo moderado, se encontró una mediana de 24.7 mg/dl, no se encontró variante de riesgo alto. (U de Mann-Whitney = 24.0, $p = 0.01$) (Figura 7).

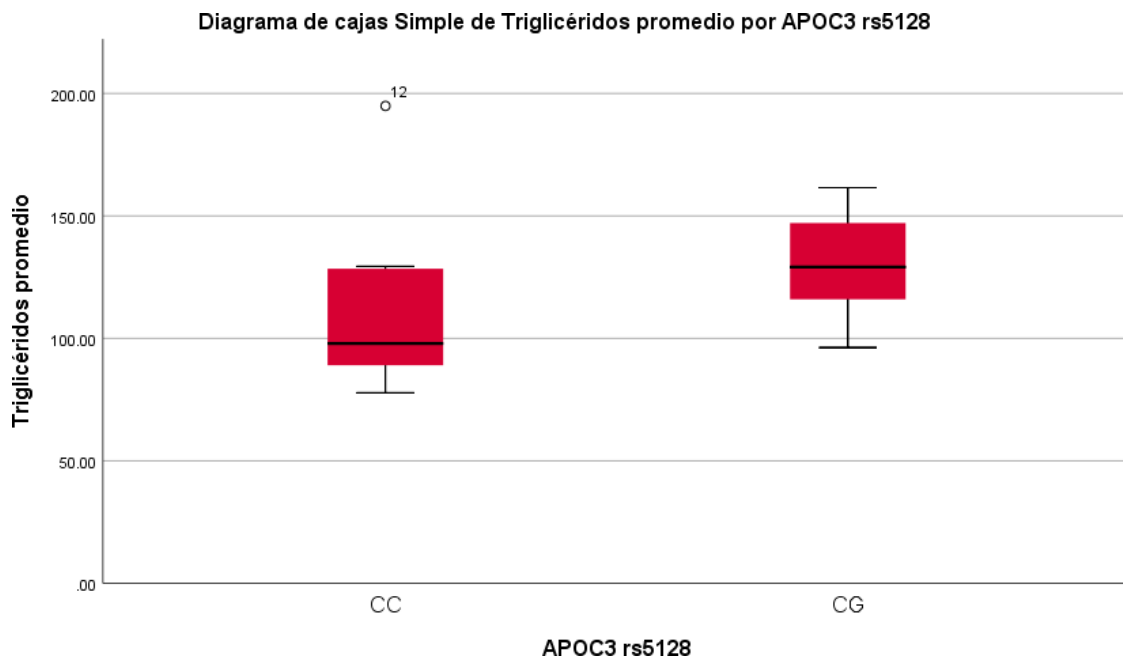


Figura 6. Niveles plasmáticos de Triglicéridos en los pacientes portadores de las variantes genéticas del SNP rs5128 [C/G] del gen APOC3.

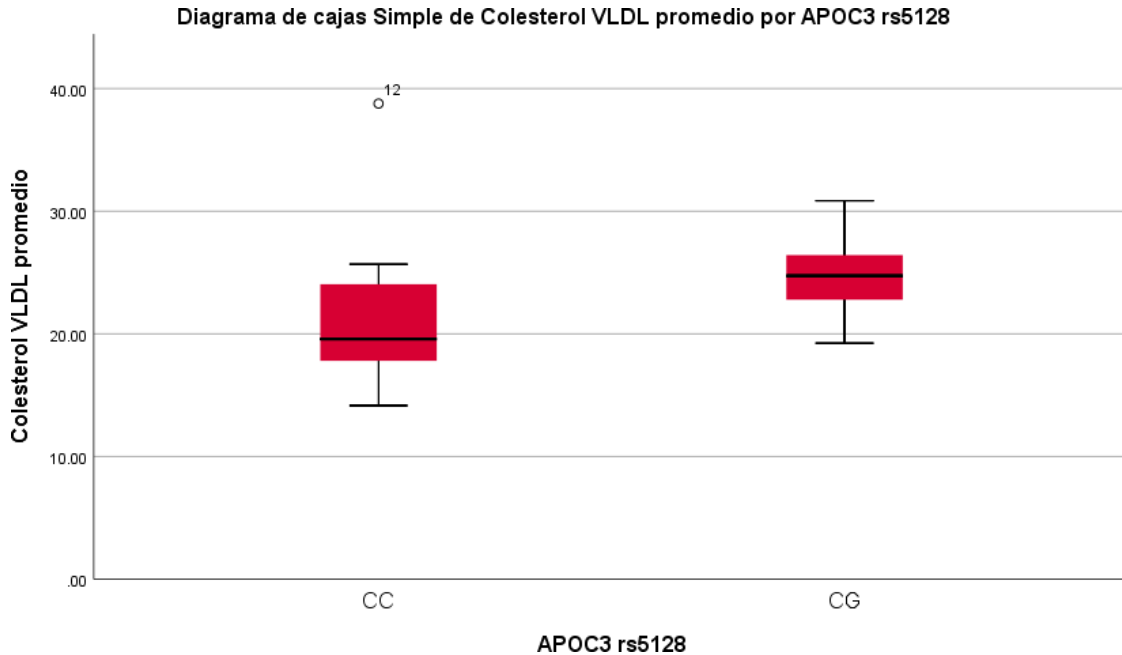


Figura 7. Niveles plasmáticos de Colesterol VLDL en los pacientes portadores de las variantes genéticas del SNP rs5128 [C/G] del gen APOC3.

En relación al colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, colesterol VLDL y triglicéridos en el seguimiento, estos no fueron significativamente diferentes en sus distribuciones entre los alelos de *APOC3* rs2854117 mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

Se observó una asociación estadísticamente significativa entre los polimorfismos de *APOA5* rs964184 y la presencia de colesterol LDL ≥ 130 mg/dl mediante la prueba de chi cuadrada ($X^2 = 13.7$, $p = 0.001$), en este caso, de los 9 pacientes con alelo CC uno presentó colesterol LDL ≥ 130 mg/dl (11.1%); de los 10 pacientes con alelo CG ninguno presentó colesterol LDL ≥ 130 mg/dl; los 2 pacientes con alelo GG (variante de riesgo alto), ambos presentaron colesterol LDL ≥ 130 mg/dl (100%) siendo estas proporciones diferentes significativamente (Figura 8).

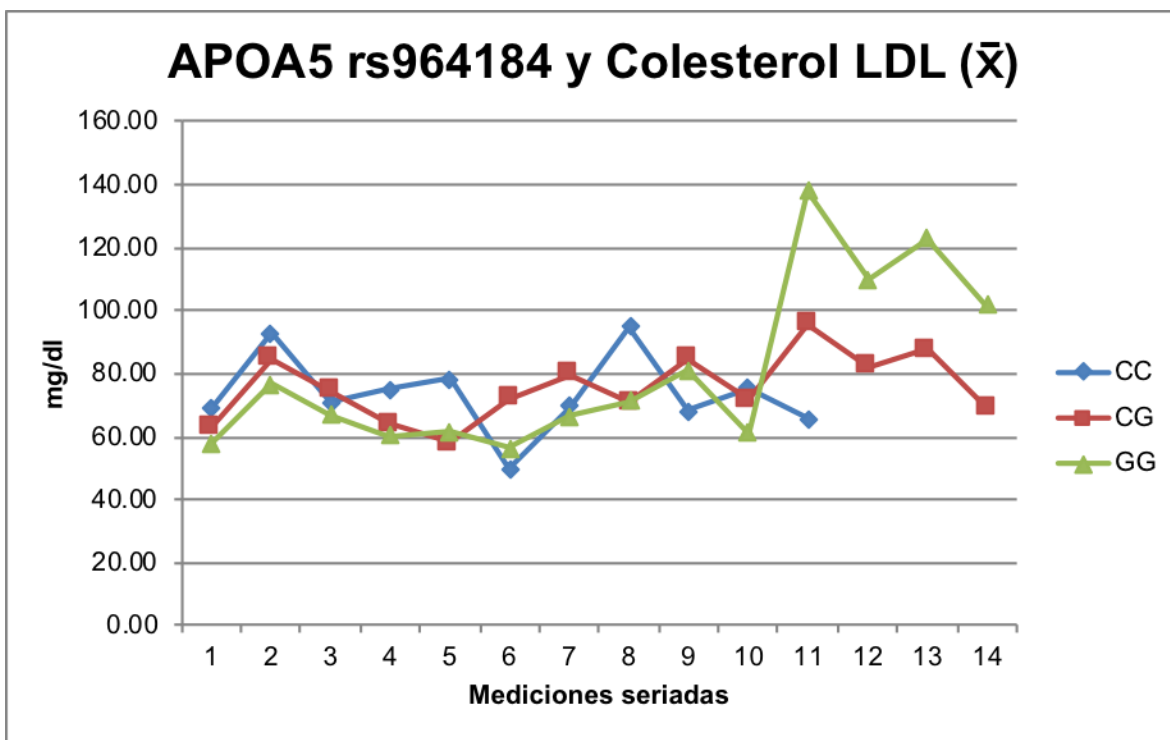


Figura 8. Mediciones consecutivas de colesterol LDL en los pacientes portadores de los genotipos CC, CG y GG del SNP rs964184 [C/G].

En relación al colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, colesterolVLDL en el seguimiento, estos no fueron significativamente diferentes en sus distribuciones entre los alelos y genotipos del SNP rs5128 del gen *APOC3* rs5128, mediante la prueba de Kruskal-Wallis (Datos no mostrados). Sin embargo, los pacientes portadores de CG variante de riesgo moderado (n=9) mostraron presentaron niveles de triglicéridos ≥ 150 mg/dl (81.8%), en comparación con los pacientes portadores del genotipo CC, de los cuales 4 de 10 mostraron triglicéridos ≥ 150 mg/dl (40.0%), no se encontró variante de riesgo alto. ($X^2 = 3.9$, $p = 0.049$) (Figura9).

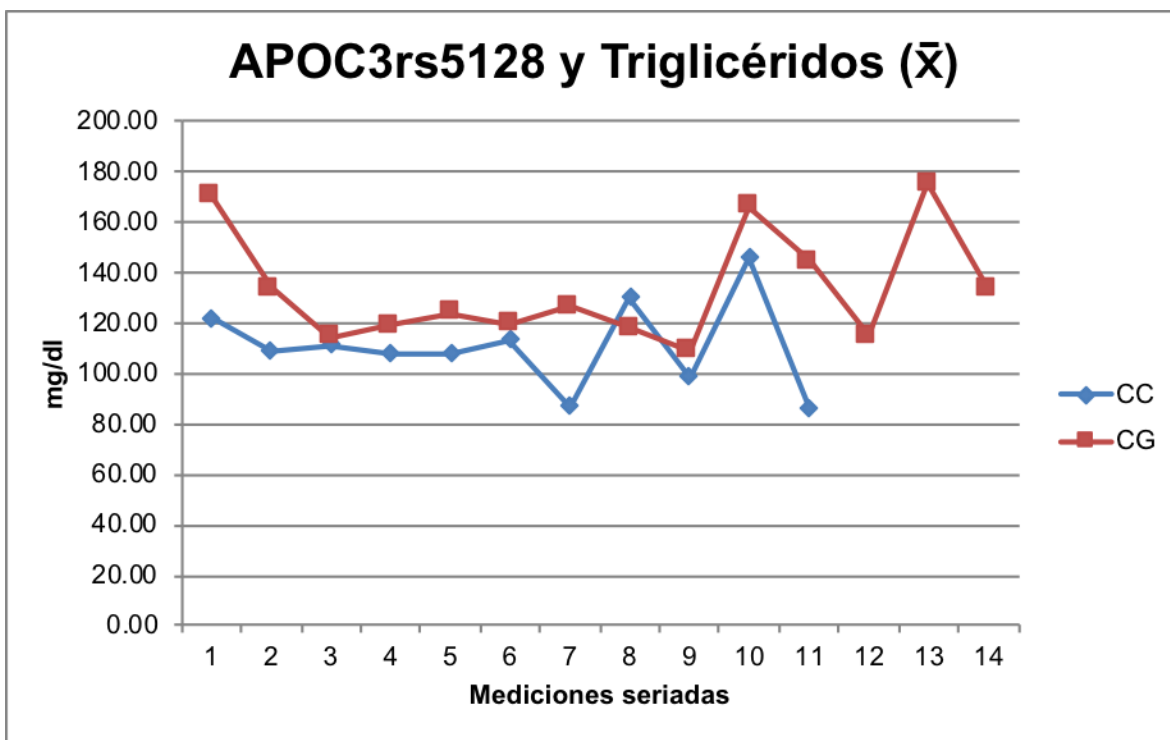


Figura 9. Mediciones consecutivas de triglicéridos, en los pacientes portadores de los genotipos CC, CG del SNP rs5128 [C/G].

DISCUSIÓN

En el presente estudio, se analizaron los diversos cambios en el perfil de lípidos de pacientes pediátricos infectados con VIH y que reciben tratamiento antirretroviral, en función de la presencia de 4 variantes genéticas o polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), presentes en los genes de las apolipoproteínas *APOC3* y *APOA5*, todos relacionados con el metabolismo de lípidos.

Idealmente, el TARV debiera iniciarse en lactantes infectados por el VIH, tan pronto ocurra el diagnóstico e independientemente del estado clínico e inmunológico, con el fin de reducir la morbi-mortalidad asociada a VIH/Sida [90]. Sin embargo, la exposición prolongada a los fármacos ARVs, si bien tiene eficacia terapéutica, tiene como consecuencia una toxicidad acumulativa. De hecho, desde la implementación del tratamiento antirretroviral combinado, la dislipidemia y la inflamación crónica han sido factores importantes en el incremento del riesgo de aterosclerosis prematura tanto en niños, como adolescentes infectados con VIH [25].

De todas las alteraciones en los perfiles lipídicos de los pacientes analizados longitudinalmente en el presente estudio, la HTG (TG > 150 mg/dL) resultó ser la más frecuente (61.9%), como previamente otros estudios lo han documentado [91, 92]. El régimen antirretroviral compuesto por LMV/ZDV/LPV/r fue el usado con mayor frecuencia en la población de pacientes analizados. A este respecto, los niños con infección por VIH y que reciben TARV, tienen alrededor de 2 veces más riesgo de desarrollar HTG, en comparación con aquellos que no reciben este tratamiento [38]. El uso de IPs (LPV/r, ATZ/r y el DRV/r) han sido asociados con el aumento de TG en diferentes poblaciones del mundo [30, 43, 44, 45, 46, 47, 48]. La dislipidemia, en particular la HTG es multifactorial y puede abarcar 30-72% de prevalencia, dependiendo de la región geográfica [30, 43, 44, 45, 46, 47, 48]. Por otra parte, en población pediátrica con infección por VIH y que reciben TARV, resulta particularmente preocupante, dado el riesgo potencialmente mayor de enfermedad cardiovascular en la edad adulta temprana [22]. De hecho, el uso de regímenes antirretrovirales que están basados en inhibidores de proteasa (IP), si bien representa una opción más potente contra la infección por VIH, dada su alta barrera

genética, también se les ha asociado con los cambios observados en el metabolismo de los lípidos [21].

De manera importante, se observó en la población que la mediana del IMC (17.5 kg/m²) fue bajo. A este respecto, un estudio de Seth y cols. (2018), documentaron que una proporción significativa de niños con infección por VIH estaban desnutridos al inicio del tratamiento antirretroviral. Asimismo, la baja estatura, que suele observarse en una proporción significativa al final de los 3 años de TARV, suele recuperarse en aquellos niños que han mostrado una buena recuperación o restitución inmunológica [93]. Este dato, indica la necesidad en la mejora de intervenciones que incidan de manera positiva en el estado nutricional, ya que está documentado que la farmacocinética del LPV en pacientes pediátricos, con infección por VIH y con desnutrición grave puede verse afectada e impactar en la eficacia terapéutica, sin embargo es necesario realizar ajustes de acuerdo a la edad de cada paciente para la obtención de datos más precisos. [94].

Por otra parte, aún con características sociodemográficas e historia farmacológica similares, no todos los pacientes infectados con el VIH, desarrollan HTG, lo que sugiere la influencia de factores genéticos que determinan la variabilidad interindividual, en la toxicidad del tratamiento antirretroviral [55, 56, 57, 58, 59, 60, 61]; entre los cuales, se encuentran las variantes genéticas o SNPs. En el presente estudio, la contribución de los SNPs rs662799 [-1131, T/C] y el rs964184 [C/G] del gen *APOA5*, así como de los SNPs rs2854117 [C/T], rs5128 [C/G] del gen *APOC3*, en el desarrollo hipercolesterolemia e HTG, se evaluó mediante un diseño de estudio de cohorte retrospectivo.

Existe asociación estadísticamente significativa entre los polimorfismos de *APOA5* rs964184 e hipercolesterolemia LDL (≥ 130 mg/dl) observándose una proporción mayor de esta alteración en los pacientes con genotipo GG. Por el contrario, ninguno de los sujetos con genotipo CG presentó esta alteración lipídica.

También se presentó asociación estadísticamente significativa entre los polimorfismos de *APOA5* rs964184 y la presencia de colesterol total ≥ 200 mg/dl; observándose esta alteración en la totalidad de los pacientes con genotipo GG. Los

polimorfismos de *APOC3* rs5128 se asoció a la presencia de hipertrigliceridemia (≥ 150 mg/dl), observándose esta alteración lipídica en una mayor proporción de los pacientes con alelo CG que con los pacientes con alelo CC.

Los pacientes con genotipo genotipo TC de la variante genética rs662799 del *APOA5* mostraron mayores niveles de colesterol-LDL, al igual que los pacientes portadores del genotipo GG de la variante genética rs964184 del mismo gen *APOA5*. Aunque no fue objetivo del presente estudio, sería de gran interés conocer si estas 2 variantes genéticas poseen un efecto aditivo. Por otra parte, la asociación de la variante genética rs662799 [T/C] del gen *APOA5* no ha sido reportada con el aumento del colesterol LDL, por lo que este estudio, sería el primero en documentarla.

Por otra parte, los pacientes portadores del genotipo CG del SNP rs5128 del gen *APOC3*, presentan hipertrigliceridemia mayor a 150 mg/dL y niveles aumentados de colesterol VLDL. A la fecha, la asociación del SNP rs5128 [C/G] solo ha sido asociado con el aumento de triglicéridos [95].

De manera importante, nuestros resultados sugieren que el impacto de los genotipos GG del SNP rs964184, TC del SNP rs662799 (gen *APOA5*), sobre el aumento en los niveles de colesterol-LDL y triglicéridos; al igual que el impacto del genotipo CG del SNP rs5128 (gen *APOC3*) en el aumento de triglicéridos, parece ser más prominente después de 30 meses de tratamiento.

Se requieren de más estudios para conocer la interacción farmacogenética entre los SNPs rs662799 [T/C], rs964184 [C/G], rs5128 [C/G] con el uso de antirretrovirales como LPV/r, en la población pediátrica de pacientes con VIH.

Si bien, en el estudio transversal, en adultos fue posible demostrar que el efecto dislipidémico estaba mayormente asociado a algunas combinaciones de fármacos [73]; el presente estudio no exploró este aspecto, dado el número limitado de pacientes.

Muchas características clínicas recopiladas en el presente estudio, como el desarrollo metabólico de los niños pueden estar sesgadas a la recopilación de datos o diferencias, o en los niveles de adherencia del paciente. Sin embargo, ya sea que

las interacciones observadas fueran inherentes a la población pediátrica o a las limitaciones del diseño de este estudio, es importante considerar la temporalidad del efecto dislipidémico con base en los genes analizados; que deberá considerarse en el diseño de futuros estudios prospectivos para aclarar esta hipótesis.

La población pediátrica estudiada, tiene la particularidad de estar conformada principalmente por una mezcla de ascendencia amerindia y española; por lo tanto es importante realizar este tipo de estudios en nuestra población, ya que los datos reportados en otras poblaciones (caucásica, asiática, afroamericana), no pueden ser extrapolados directamente.

Aunque existen limitaciones con el tamaño de muestra, fue posible realizar el análisis inferencial con la aplicación de pruebas no paramétricas e incluso la construcción de gráficos que permitieron evidenciar la HTG en función de los alelos/genotipos de cada una de las variantes genéticas analizadas.

Si bien se requieren estudios prospectivos y con una muestra mayor de pacientes, la aplicación de los hallazgos de nuestra investigación representa una oportunidad para la adecuación del TARV en los niños infectados por el VIH, con base en su perfil genético de riesgo. Lo anterior posee un amplio campo de aplicación en la toma de decisiones terapéuticas, en estos pacientes pediátricos, cuyo tratamiento es de por vida.

CONCLUSIONES

1. Las variantes genéticas rs964184-GG y rs662799-TC del gen *APOA5* y rs5128-CG del gen *APOC3* tienen un impacto en el aumento de triglicéridos plasmáticos de pacientes pediátricos con VIH.
2. Los pacientes portadores de la variante genética rs662799-TC del gen *APOA5* mostraron además, aumento de colesterol-LDL de manera notoria a partir de los 30 meses de tratamiento antirretroviral.
3. Los pacientes portadores de la variante genética rs5128-CG del gen *APOC3* mostraron aumento de colesterol-VLDL.
4. Las alteraciones en el perfil lipídico a expensas de triglicéridos, colesterol-LDL y colesterol-VLDL, resultaron ser más significativos a partir de los 30 meses de tratamiento antirretroviral.
5. El uso del régimen antirretroviral 3TC/AZT/LPV/r fue el administrado con mayor frecuencia.
6. La mediana de IMC en la población estudiada fue de 19.2 kg/m² correspondiente a peso bajo al inicio de la terapia antirretroviral.

REFERENCIAS

1. Maartens G, Celum C, Lewin SR. HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. *Lancet*. 2014; 384(9939):258-271. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60164-1.
2. Deeks SG, Overbaugh J, Phillips A, Buchbinder S. HIV infection. *Nat Rev Dis Primers*. 2015; 1:15035. doi: 10.1038/nrdp.2015.35.
3. Lucas S, Nelson AM. HIV and the spectrum of human disease. *J Pathol*. 2015; 235(2):229-241. doi: 10.1002/path.4449.
4. Onusida, 2018. ESTADÍSTICAS MUNDIALES SOBRE EL VIH DE 2017. Disponible en: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_es.pdf
5. Censida, 2017. Vigilancia Epidemiológica de casos de VIH/SIDA en México Registro Nacional de Casos de SIDA Actualización al Cierre de 2017.
6. Shiau S, Abrams EJ, Arpadi SM, Kuhn L. Early antiretroviral therapy in HIV-infected infants: can it lead to HIV remission? *Lancet HIV*. 2018; 5(5):e250-e258. doi: 10.1016/S2352-3018(18)30012-2.
7. WHO. 2015. World Health Organization. HIV/AIDS. Available at: www.who.int/hiv/. Accessed December 13, 2015.
8. De Cock KM, Jaffe HW, Curran JW. 2012. The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS*. 26(10):1205-1213.
9. Vella S, Schwartländer B, Sow SP, Eholie SP, Murphy RL. The history of antiretroviral therapy and of its implementation in resource-limited areas of the world. *AIDS*. 2012; 26(10):1231-41. doi: 10.1097/QAD.0b013e32835521a3.
10. Glass TR, Rotger M, Telenti A, Decosterd L, Csajka C, Bucher HC, Günthard HF, Rickenbach M, Nicca D, Hirschel B, Bernasconi E, Wandeler G, Battegay M, Marzolini C; Swiss HIV Cohort Study, 2012. Determinants of sustained viral suppression in HIV-infected patients with self-reported poor adherence to antiretroviral therapy. *PLoS One*. 7(1):e29186.

11. Alcamí J, Coiras M. Inmunopatogenia de la infección por el VIH. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011; 29(3):216-226. doi: 10.1016/j.eimc.2011.01.006.
12. Kyeyune F, Gibson RM, Nankya I, Venner C, Metha S, Akao J, Ndashimye E, Kityo CM, Salata RA, Mugenyi P, Arts EJ, Quiñones-Mateu ME. Low-Frequency Drug Resistance in HIV-Infected Ugandans on Antiretroviral Treatment Is Associated with Regimen Failure. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016; 60(6):3380-3397. doi: 10.1128/AAC.00038-16.
13. Ribera E, Tuset M, Martín M, del Cacho E. Características de los fármacos antirretrovirales. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011; 29(5):362-391. doi:10.1016/j.eimc.2011.02.004.
14. DHHS, 2018. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents Living with HIV. Department of Health and Human Services. Available at: <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>.
15. EACS, 2017. European Clinical AIDS Society. Disponible en: http://www.eacsociety.org/files/guidelines_9.0-english.pdf
16. Deeks ED. Bictegravir/Emtricitabine/Tenofovir Alafenamide: A Review in HIV-1 Infection. *Drugs.* 2018; 78(17):1817-1828. doi: 10.1007/s40265-018-1010-7.
17. WHO, 2016. World Health Organization. Guideline on when to start antiretroviral therapy and on pre-exposure prophylaxis. 2015. Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/186275/1/9789241509565_eng.pdf. Accessed February 13, 2016.
18. Davies MA, Gibb D, Turkova A. Survival of HIV-1 vertically infected children. *Curr Opin HIV AIDS.* 2016; 11(5):455-464.
19. Persaud D, Patel K, Karalius B, Rainwater-Lovett K, Ziemniak C, Ellis A, Chen YH, Richman D, Siberry GK, Van Dyke RB, Burchett S, Seage GR 3rd, Luzuriaga K; Pediatric HIV/AIDS Cohort Study. Influence of age at virologic control on peripheral blood human immunodeficiency virus reservoir size and serostatus in perinatally infected adolescents. *JAMA Pediatr.* 2014; 168(12):1138-46. doi: 10.1001/jamapediatrics.2014.1560.

20. Grunfeld C, Pang M, Doerrler W, Shigenaga JK, Jensen P, Feingold KR. Lipids, lipoproteins, triglyceride clearance, and cytokines in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992 May; 74(5):1045-1052.
21. da Cunha J, Maselli LM, Stern AC, Spada C, Bydlowski SP. Impact of antiretroviral therapy on lipid metabolism of human immunodeficiency virus-infected patients: Old and new drugs. *World J Virol.* 2015; 12; 4(2):56-77. doi: 10.5501/wjv.v4.i2.56.
22. Dapena M, Jiménez B, Noguera-Julian A, Soler-Palacín P, Fortuny C, Lahoz R, Aracil FJ, Figueras C, de José MI. Metabolic disorders in vertically HIV-infected children: future adults at risk for cardiovascular disease. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2012; 25(5-6):529-535.
23. Barlow-Mosha L, Eckard AR, McComsey GA, Musoke PM. Metabolic complications and treatment of perinatally HIV-infected children and adolescents. *J Int AIDS Soc.* 2013; 16:18600. doi: 10.7448/IAS.16.1.18600.
24. Tripathi A, Liese AD, Winniford MD, Jerrell JM, Albrecht H, Rizvi AA, Zhang J, Duffus WA. Impact of clinical and therapeutic factors on incident cardiovascular and cerebrovascular events in a population-based cohort of HIV-infected and non-HIV-infected adults. *Clin Cardiol.* 2014; 37(9):517-522. doi: 10.1002/clc.22311.
25. Augustemak de Lima LR, Petroski EL, Moreno YMF, Silva DAS, Trindade EBMS, Carvalho AP, Back IC. Dyslipidemia, chronic inflammation, and subclinical atherosclerosis in children and adolescents infected with HIV: The PositHIVE Health Study. *PLoS One.* 2018; 13(1):e0190785. doi: 10.1371/journal.pone.0190785.
26. Jain A, Kolvekar T, Nair DR. HIV infection and lipids. *Curr Opin Cardiol.* 2018; 33(4):429-435. doi: 10.1097/HCO.0000000000000520.
27. Oh J, Hegele RA. HIV-associated dyslipidaemia: pathogenesis and treatment. *Lancet Infect Dis.* 2007; 7(12):787-96.
28. Lazzaretti RK, Gasparotto AS, Sassi MG, Polanczyk CA, Kuhmmer R, Silveira JM, Basso RP, Pinheiro CA, Silveira MF, Sprinz E, Mattevi VS. Genetic

- markers associated to dyslipidemia in HIV-infected individuals on HAART. *ScientificWorldJournal*. 2013; 2013:608415. doi: 10.1155/2013/608415.
29. van Wijk JP, Cabezas MC. Hypertriglyceridemia, Metabolic Syndrome, and Cardiovascular Disease in HIV-Infected Patients: Effects of Antiretroviral Therapy and Adipose Tissue Distribution. *Int J Vasc Med*. 2012; 2012:201027. doi:10.1155/2012/201027.
 30. Solórzano Santos F, Gochicoa Rangel LG, Palacios Saucedo G, Vázquez Rosales G, Miranda Novales MG. Hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia in human immunodeficiency virus-1-infected children treated with protease inhibitors. *Arch Med Res*. 2006; 37(1):129-132.
 31. Troll JG. 2011. Approach to dyslipidemia, lipodystrophy, and cardiovascular risk in patients with HIV infection. *Curr Atheroscler Rep*. 2010; 13(1):51-56.
 32. Kalyanasundaram AP, Jacob SM, Hemalatha R, Sivakumar MR. Prevalence of lipodystrophy and dyslipidemia among patients with HIV infection on generic ART in rural South India. *J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic)*. 2012; 11(5):329-334.
 33. Tadewos A, Addis Z, Ambachew H, Banerjee S. Prevalence of dyslipidemia among HIV-infected patients using first-line highly active antiretroviral therapy in Southern Ethiopia: a cross-sectional comparative group study. *AIDS Res Ther*. 2012; 29(1):31.
 34. Myerson M, Poltavskiy E, Armstrong EJ, Kim S, Sharp V, Bang H. Prevalence, treatment and control of dyslipidemia and hypertension in 4278 HIV outpatients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2014; 66(4):370-377.
 35. Cahn P, Leite O, Rosales A, Cabello R, Alvarez CA, Seas C, Carcamo C, Cure-Bolt N, L'Italien GP, Mantilla P, Deibis L, Zala C, Suffert T. Metabolic profile and cardiovascular risk factors among Latin American HIV-infected patients receiving HAART. *Braz J Infect Dis*. 2010; 14(2):158-166.
 36. Mata-Marín JA, Manjarrez-Téllez B, Gaytán-Martínez J, Chávez-García M, Banda-Lara MI, Ortega-Ortiz C, Nuñez-Rodríguez N, Domínguez-Hermosillo JC, Huerta-García G, Cruz-Herrera JE, Zapata-López R, Sandoval-Ramírez J. Dyslipidemia and Fasting Glucose Impairment among HIV-Infected

- Patients 48-Weeks after the First Antiretroviral Regimen. *J AIDS Clin Res* 2015; 6:12 533. doi: 10.4172/2155- 6113.1000533.
37. Rondan PL, Flores-Flores O, Doria NA, Valencia-Mesias G, Chávez-Pérez V, Soria J. Elevada frecuencia dislipidemia en pacientes infectados por VIH en un Hospital público peruano. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2017; 34(2):239-244. doi: 10.17843/rpmesp.2017.342.2587.
38. Nduka C, Sarki A, Uthman O, Stranges S. Impact of antiretroviral therapy on serum lipoprotein levels and dyslipidemias: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2015; 199:307-318. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.07.052.
39. Nsagha DS, Weledji EP, Assob NJ, Njunda LA, Tanue EA, Kibu OD, Ayima CW, Ngowe MN. Highly active antiretroviral therapy and dyslipidemia in people living with HIV/AIDS in Fako Division, South West Region of Cameroon. *BMC Cardiovasc Disord*. 2015; 15:95. doi: 10.1186/s12872-015-0090-5.
40. Levy ME, Greenberg AE, Magnus M, Younes N, Castel A. Immunosuppression and HIV Viremia Associated with More Atherogenic Lipid Profile in Older People with HIV. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2018; *En prensa*. doi: 10.1089/AID.2018.0145.
41. Siegel MO, Borkowska AG, Dubrovsky L, Roth M, Welti R, Roberts AD, Parenti DM, Simon GL, Sviridov D, Simmens S, Bukrinsky M, Fitzgerald ML. HIV infection induces structural and functional changes in high density lipoproteins. *Atherosclerosis*. 2015; 243(1):19-29. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.08.036.
42. Funderburg NT, Mehta NN. Lipid Abnormalities and Inflammation in HIV Infection. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2016; 13(4):218-225. doi: 10.1007/s11904-016-0321-0.
43. European Paediatric Lipodystrophy Group. Antiretroviral therapy, fat redistribution and hyperlipidaemia in HIV-infected children in Europe. *AIDS*. 2004; 18(10):1443-1451.
44. Kanjanavanit S, Puthanakit T, Vibol U, Kosalaraksa P, Hansudewechakul R, Ngampiyasakul C, Wongsawat J, Luesomboon W, Wongsabut J,

- Mahanontharit A, Suwanlerk T, Saphonn V, Ananworanich J, Ruxrungtham K; PREDICT study group. High prevalence of lipid abnormalities among antiretroviral-naive HIV-infected Asian children with mild-to-moderate immunosuppression. *Antivir Ther.* 2011; 16(8):1351-5. doi: 10.3851/IMP1897.
45. Hazra R, Cohen RA, Gonin R, Monteiro JP, Hofer CB, Negra MD, Ruz NP; NISDI Pediatric Study Group 2011. Lipid levels in the second year of life among HIV-infected and HIV-exposed uninfected Latin American children. *AIDS.* 2012; 26(2):235-240. doi: 10.1097/QAD.0b013e32834dc5fc.
46. Rocco CA, Mecikovsky D, Aulicino P, Bologna R, Sen L, Mangano A. Hypercholesterolemia is associated with the apolipoprotein C-III (APOC3) genotype in children receiving HAART: an eight-year retrospective study. *PLoS One.* 2012; 7(7):e39678. doi: 10.1371/journal.pone.0039678.
47. Mandal A, Mukherjee A, Lakshmy R, Kabra SK, Lodha R. Dyslipidemia in HIV Infected Children Receiving Highly Active Antiretroviral Therapy. *Indian J Pediatr.* 2016; 83(3):226-231. doi: 10.1007/s12098-015-1859-3.
48. Paganella MP, Cohen RA, Harris DR, de Souza Kuchenbecker R, Sperhacker RD, Kato SK, Oliveira da Silva CL, Sturzbecher FT, Oliveira RH, Pavia-Ruz N, Hazra R; NISDI PLACES Protocol. Association of Dyslipidemia and Glucose Abnormalities With Antiretroviral Treatment in a Cohort of HIV-Infected Latin American Children. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2017; 74(1):e1-e8.
49. Cheseaux JJ, Jotterand V, Aebi C, Gnehm H, Kind C, Nadal D, Rudin C, Lazarevitch CA, Nicod P, Mooser V. Hyperlipidemia in HIV-infected children treated with protease inhibitors: relevance for cardiovascular diseases. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2002; 30(3):288-293.
50. Barlow-Mosha L, Eckard AR, McComsey GA, Musoke PM. Metabolic complications and treatment of perinatally HIV-infected children and adolescents. *J Int AIDS Soc.* 2013; 16:18600. doi: 10.7448/IAS.16.1.18600.

51. Idris NS, Grobbee DE, Burgner D, Cheung MM, Kurniati N, Sastroasmoro S, Uiterwaal CS. Cardiovascular manifestations of HIV infection in children. *Eur J Prev Cardiol.* 2015; 22(11):1452-1461. doi: 10.1177/2047487314560086.
52. Lipshultz SE, Williams PL, Wilkinson JD, Leister EC, Van Dyke RB, Shearer WT, Rich KC, Hazra R, Kaltman JR, Jacobson DL, Dooley LB, Scott GB, Rabideau N, Colan SD; Pediatric HIV/AIDS Cohort Study (PHACS). Cardiac status of children infected with human immunodeficiency virus who are receiving long-term combination antiretroviral therapy: results from the Adolescent Master Protocol of the Multicenter Pediatric HIV/AIDS Cohort Study. *JAMA Pediatr.* 2013; 167(6):520-527. doi: 10.1001/jamapediatrics.2013.1206.
53. Smith CJ, Ryom L, Weber R, Morlat P, Pradier C, Reiss P, Kowalska JD, de Wit S, Law M, el Sadr W, Kirk O, Friis-Moller N, Monforte Ad, Phillips AN, Sabin CA, Lundgren JD; D:A:D Study Group. Trends in underlying causes of death in people with HIV from 1999 to 2011 (D:A:D): a multicohort collaboration. *Lancet.* 2014. 384(9939):241-8. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60604-8.
54. Goehringer F, Bonnet F, Salmon D, Cacoub P, Paye A, Chêne G, Morlat P, May T. Causes of Death in HIV-Infected Individuals with Immunovirologic Success in a National Prospective Survey. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2017. 33(2):187-193. doi: 10.1089/AID.2016.0222.
55. Tarr PE, Taffé P, Bleiber G, Furrer H, Rotger M, Martinez R, Hirschel B, Battegay M, Weber R, Vernazza P, Bernasconi E, Darioli R, Rickenbach M, Ledergerber B, Telenti A; Swiss HIV Cohort Study. Modeling the influence of APOC3, APOE, and TNF polymorphisms on the risk of antiretroviral therapy-associated lipid disorders. *J Infect Dis.* 2005. 191(9):1419-1426
56. Mallon PG. Antiretroviral therapy and dyslipidemia: Unlockin the code. *PLoS Medicine.* 2006; 3: e85.
57. Tarr PE, Telenti A. Toxicogenetics of antiretroviral therapy: genetic factors that contribute to metabolic complications. *Antivir Ther.* 2007; 12(7):999-1013.

58. Gutiérrez Maciá MM, Mateo García MG, Vidal Marsal F, Domingo Pedrol P. Toxicogenética del tratamiento antirretroviral (1): lipodistrofia, alteraciones metabólicas y and arterioesclerosis. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008; Suppl. 6: 18-23
59. Zalone Poma B, Riva A, Nasi M, Cicconi P, Brogini V, Lepri AC, Mologni D, Mazzotta F, Monforte AD, Mussini C, Cossarizza A, Galli M; Icona Foundation Study Group. 2008. Genetic polymorphisms differently influencing the emergence of atrophy and fat accumulation in HIV-related lipodystrophy. *AIDS*. 22(14):1769–1778.
60. Tadewos A, Addis Z, Ambachew H, Banerjee S. Prevalence of dyslipidemia among HIV-infected patients using first-line highly active antiretroviral therapy in Southern Ethiopia: a cross-sectional comparative group study. *AIDS Res Ther*. 2012; 9(1):31. doi: 10.1186/1742-6405-9-31.
61. de Almeida ER, Reiche EM, Kallaur AP, Flauzino T, Watanabe MA. 2013. The roles of genetic polymorphisms and human immunodeficiency virus infection in lipid metabolism. *Biomed Res Int.*; 2013:836790.
62. Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G, Sherry S, Mullikin JC, Mortimore BJ, Willey DL, Hunt SE, Cole CG, Coggill PC, Rice CM, Ning Z, Rogers J, Bentley DR, Kwok PY, Mardis ER, Yeh RT, Schultz B, Cook L, Davenport R, Dante M, Fulton L, Hillier L, Waterston RH, McPherson JD, Gilman B, Schaffner S, Van Etten WJ, Reich D, Higgins J, Daly MJ, Blumenstiel B, Baldwin J, Stange-Thomann N, Zody MC, Linton L, Lander ES, Altshuler D; International SNP Map Working Group. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature*. 2001; 409(6822): 928-933.
63. Tarr PE, Rotger M, Telenti A. Dyslipidemia in HIV-infected individuals: from pharmacogenetics to pharmacogenomics. *Pharmacogenomics*. 2010; 11(4):587-594. doi: 10.2217/pgs.10.35.
64. Twyman RM. SNP discovery and typing technologies for pharmacogenomics. *Curr Top Med Chem*. 2004; 4(13):1423-1431.

65. Rotger M, Bayard C, Taffé P, Martinez R, Cavassini M, Bernasconi E, Battegay M, Hirschel B, Furrer H, Witteck A, Weber R, Ledergerber B, Telenti A, Tarr PE; Swiss HIV Cohort Study. Contribution of genome-wide significant single-nucleotide polymorphisms and antiretroviral therapy to dyslipidemia in HIV-infected individuals: a longitudinal study. *Circ Cardiovasc Genet.* 2009; 2(6):621-8. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.109.874412.
66. Hubacek JA. Apolipoprotein A5 fifteen years anniversary: Lessons from genetic epidemiology. *Gene.* 2016; 592(1):193-199. doi: 10.1016/j.gene.2016.07.070.
67. Weissglas-Volkov D, Aguilar-Salinas CA, Sinsheimer JS, Riba L, Huertas-Vazquez A, Ordoñez-Sánchez ML, Rodríguez-Guillen R, Cantor RM, Tusie-Luna T, Pajukanta P. Investigation of variants identified in caucasian genome-wide association studies for plasma high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides levels in Mexican dyslipidemic study samples. *Circ Cardiovasc Genet.* 2010; 3(1):31-38. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.109.908004.
68. Ko A, Cantor RM, Weissglas-Volkov D, Nikkola E, Reddy PM, Sinsheimer JS, Pasaniuc B, Brown R, Alvarez M, Rodriguez A, Rodriguez-Guillen R, Bautista IC, Arellano-Campos O, Muñoz-Hernández LL, Salomaa V, Kaprio J, Jula A, Jauhiainen M, Heliövaara M, Raitakari O, Lehtimäki T, Eriksson JG, Perola M, Lohmueller KE, Matikainen N, Taskinen MR, Rodriguez-Torres M, Riba L, Tusie-Luna T, Aguilar-Salinas CA, Pajukanta P. Amerindian-specific regions under positive selection harbour new lipid variants in Latinos. *Nat Commun.* 2014; 5:3983. doi: 10.1038/ncomms4983.
69. Ramms B, Gordts PLSM. Apolipoprotein C-III in triglyceride-rich lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol.* 2018; 29(3):171-179. doi: 10.1097/MOL.0000000000000502.
70. Foulkes AS, Wohl DA, Frank I, Puleo E, Restine S, Wolfe ML, Dube MP, Tebas P, Reilly MP. Associations among race/ethnicity, ApoC-III genotypes, and lipids in HIV-1-infected individuals on antiretroviral therapy. *PLoS Med.* 2006; 3(3):e52.

71. Radovica I, Fridmanis D, Vaivade I, Nikitina-Zake L, Klovins J. The association of common SNPs and haplotypes in CETP gene with HDL cholesterol levels in Latvian population. PLoS One. 2013; 8(5):e64191. doi: 10.1371/journal.pone.0064191.
72. Egaña-Gorroño L, Martínez E, Cormand B, Escribà T, Gatell J, Arnedo M. Impact of genetic factors on dyslipidemia in HIV-infected patients starting antiretroviral therapy. AIDS. 2013; 27(4):529-538. doi: 10.1097/QAD.0b013e32835d0da1.
73. Bautista-Martínez JS, Mata-Marín JA, Sandoval-Ramírez J, Chaparro-Sánchez A, Manjarrez-Téllez B, Núñez-Armendáriz M, Trejo-Sánchez N, Cruz-Sánchez A, Núñez-Rodríguez N, Martínez-Abarca I, Morales-González GS, Álvarez-Mendoza JP, Treviño-Pérez SC, Santoscoy M, Molina-Alvarado M, Gutiérrez-Barragán E, Ríos-De los Ríos Jussara, Contreras-Chávez G, Olivares-Labastida A, Tapia-Magallanes D, Ribas-Aparicio RM, Ruiz-Tachiquín ME, Miranda-Duarte A, Zenteno JC, Pompa-Mera EN. Contribution of genetic variants in *APOA5*, *APOC3*, *CETP*, *SIK3*, and *ABCA1* genes in development of dyslipidemia in Mexicans HIV-patients receiving antiretroviral therapy. *Manuscript in preparation*.
74. Bobat R, Archary M, Lawler M. An update on the HIV treatment cascade in children and adolescents. Curr Opin HIV AIDS. 2015; 10(6):411-419. doi: 10.1097/COH.000000000000201.
75. Buentello-Volante B, Rodriguez-Ruiz G, Miranda-Duarte A, Pompa-Mera EN, Graue-Wiechers F, Bekker-Méndez C, Ayala-Ramirez R, Quezada C, Rodríguez-Loaiza JL, Zenteno JC. 2012. Susceptibility to advanced age-related macular degeneration and alleles of complement factor H, complement factor B, complement component 2, complement component 3, and age-related maculopathy susceptibility 2 genes in a Mexican population. Mol Vis. 18:2518-25.
76. NORMA Oficial Mexicana NOM-010-SSA2-2010, Para la prevención y el control de la infección por Virus de la Inmunodeficiencia Humana.

77. NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico-infecciosos-Clasificación y especificaciones de manejo.
78. Ley General de Salud, promulgada en el Diario Oficial de la Federación el 7 de febrero de 1984. Última Reforma publicada en el DOF el 12 de julio de 2018.
79. NOM-012-SSA3-2012, Que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos.
80. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial de 1964. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Última actualización en 2013, 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013.
81. NORMA Oficial Mexicana NOM-010-SSA2-2010, Para la prevención y el control de la infección por Virus de la Inmunodeficiencia Humana.
82. Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos. UNESCO. 11 de noviembre de 1997. Disponible en http://portal.unesco.org/es/ev.php-URL_ID=13177&URL_DO=DO_TOPIC&URL_SECTION=201.html
83. NORMA Oficial Mexicana NOM-010-SSA2-2010, Para la prevención y el control de la infección por Virus de la Inmunodeficiencia Humana.
84. NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico-infecciosos-Clasificación y especificaciones de manejo.
85. NORMA Oficial Mexicana NOM-010-SSA2-2010, Para la prevención y el control de la infección por Virus de la Inmunodeficiencia Humana.
86. GPC, 2017 para la Prevención, diagnóstico y tratamiento de la exposición laboral al VIH en trabajadores de la salud. Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México, 16/03/2017.
87. Melvin AJ, Montepiedra G, Aaron L, Meyer WA 3rd, Spiegel HM, Borkowsky W, Abzug MJ, Best BM, Crain MJ, Borum PR, Graham B, Anthony P, Shin K, Siberry GK; P1063 Study Team. Safety and Efficacy

- of Atorvastatin in Human Immunodeficiency Virus-infected Children, Adolescents and Young Adults With Hyperlipidemia. *Pediatr Infect Dis J*. 2017; 36 (1):53-60.
88. Da Cunha J, Morganti J, Ferreira Maselli J, Bassi Stern AC, Spada C, Paulo Bydlowski S. Impact of antiretroviral therapy on lipid metabolism of human immunodeficiency virus-infected patients: Old and new drugs. *World J Virol*; 2015; 4(2): 56-77.
89. Tratamiento Antirretroviral para el Paciente con VIH. Guía de Práctica Clínica (GPC) 2009. México. Instituto Mexicano del Seguro Social. Guía elaborada en 2010 y actualizada en 2011. ISBN: 978-607-7790-60-0.
90. Shiao S, Abrams EJ, Arpadi SM, Kuhn L. Early antiretroviral therapy in HIV-infected infants: can it lead to HIV remission? *Lancet HIV*. 2018; 5(5):e250-e258. doi: 10.1016/S2352-3018(18)30012-2.
91. Nampijja D, Kumbakumba E, Bajunirwe F, Kiwanuka J. Dyslipidemia and its Correlates among HIV Infected Children on HAART Attending Mbarara Regional Referral Hospital. *Int Clin Pathol J*. 2017; 4(3). pii: 00098. doi: 10.15406/icpjl.2017.04.00098.
92. Tadesse BT, Foster BA, Chala A, Chaka TE, Bizuayehu T, Ayalew F, H/Meskel G, Tadesse S, Jerene D, Makonnen E, Aklillu E. HIV and cART-Associated Dyslipidemia Among HIV-Infected Children. *J Clin Med*. 2019; 8(4). pii: E430. doi: 10.3390/jcm8040430.
93. Seth A, Malhotra RK, Gupta R, Chandra J, Kumar P, Singh S, Sharma G. Effect of Antiretroviral Therapy on Growth Parameters of Children With HIV Infection. *Pediatr Infect Dis J*. 2018; 37(1):85-89. doi: 10.1097/INF.0000000000001719.
94. Archary M, McIlleron H, Bobat R, La Russa P, Sibaya T, Wiesner L, Hennig S. Population Pharmacokinetics of Lopinavir in Severely Malnourished HIV-infected Children and the Effect on Treatment Outcomes. *Pediatr Infect Dis J*. 2018; 37(4):349-355. doi: 10.1097/INF.0000000000001867.

95. Liu Y, Ordovas JM, Gao G, Province M, Straka RJ, Tsai MY, Lai CQ, Zhang K, Borecki I, Hixson JE, Allison DB, Arnett DK. Pharmacogenetic association of the APOA1/C3/A4/A5 gene cluster and lipid responses to fenofibrate: the genetics of lipid-lowering drugs and diet network study. *Pharmacogenet Genomics*. 2009; 19(2):161-9. doi: 10.1097/FPC.0b013e32831e030e.